

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Jasna Alić

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Jasna Alić

**Sinteza, spektroskopska karakterizacija i biološka aktivnost novih
amidnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina**

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Marijana Hranjec, FKIT

Članovi ispitnog povjerenstva: izv. prof. dr. sc. Marijana Hranjec, FKIT

dr. sc. Irena Sović, poslijedoktorandica FKIT

Izv. prof. dr. sc. Danijela Ašperger, FKIT

Zagreb, rujan 2016.

Zahvaljujem svojoj mentorici, izv. prof. dr. sc. Marijani Hranjec na danoj mogućnosti izrade ovog diplomskog rada. Također joj zahvaljujem na uloženom trudu i vremenu te svim savjetima, pomoći, strpljenju i razumijevanju pruženom tijekom pisanja ovog rada.

Velika zahvala znanstvenoj novakinji dr. sc. Nataši Perin na savjetima, objašnjenjima i stručnom vodstvu prilikom provedbe eksperimentalnog dijela, na strpljenju i ljubaznosti te na velikoj pomoći pruženoj tijekom pisanja ovog rada.

Na kraju, najveća zahvala mojim roditeljima, sestri i bratu na njihovoj bezuvjetnoj ljubavi i podršci pružanoj tijekom svih godina školovanja.

SAŽETAK

Sinteza, spektroskopska karakterizacija i biološka aktivnost novih amidnih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

U okviru ovog rada provedena je sinteza i spektroskopska karakterizacija novih karboksamido i dikarboksamido 6-*N*-supstituiranih, 2,6-*N,N*-disupstituiranih te 2-*N*-supstituiranih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina. Ciljani spojevi pripremljeni su klasičnim reakcijama organske i fotokemijske sinteze.

Aciklički prekursori **3**, **16** i **24** pripremljeni su reakcijom kondenzacije odgovarajućih različito supstituiranih benzaldehida **2** i **15** s 2-cijanometil i 2-metil benzimidazolima **1** i **23**. Ciklički derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina, **4**, **17** i **25**, priređeni su termičkom ciklizacijom acikličkog prekursora **3** u sulfolanu na 280 °C, te reakcijom fotokemijske dehidrociklizacije spojeva **16** i **24** u etanolu uz dodatak joda i osvjtljavanjem UV-Hg lampom od 400 W. Kiselo kataliziranom hidrolizom cijano supstituiranih derivata **4**, **17** i **25** priređene su odgovarajuće karboksilne kiseline **5**, **18** i **26** koje su u reakciji s tionil-kloridom dale acilne halogenide **6**, **19** i **27**.

N-karboksamido supstituirani derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **7**, **8**, **10–14**, **20–22** te **28–31** sintetizirani su u reakciji acilnih halogenida benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **6**, **19** i **27** s odgovarajućim aminima u suhom diklormetanu.

Strukture priređenih produkata potvrđene su ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom a spojevi su dodatno okarakterizirani UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom. Korištenjem UV/Vis spektroskopije provedena je spektroskopska karakterizacija ciljanih derivata **7**, **8**, **10–14**, **20–22** te **28–31** dok su fluorimetrijska ispitivanja provedena za tri *N*-piperidinil supstituirana derivata **7**, **20** i **28**.

Ključne riječi: benzimidazoli, karboksamido supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini, ¹H i ¹³C NMR, UV/Vis i fluorimetrijska spektroskopija.

SUMMARY

Synthesis, biological activity and spectroscopic characterization of novel benzimidazo[1,2-*a*]quinoline carboxamide derivatives

This work presents the synthesis and spectroscopic characterization of novel carboxamido and dicarboxamido 6- *N*-substituted, 2,6-*N*, *N*-disubstituted and 2-*N*-substituted benzimidazole[1,2-*a*]quinoline derivatives. Target compounds were prepared by conventional reactions of organic and photochemical synthesis.

Acyclic precursors **3**, **16** and **24** were prepared by the condensation reaction of the corresponding variably substituted benzaldehyde **2** and **15** with 2-cyanomethyl, and 2-methyl benzimidazole **1** and **23**. The cyclic derivatives of benzimidazole[1,2-*a*]quinolines, **4**, **17** and **25**, were prepared by the thermal cyclization of the acyclic precursor **3** in sulfolane at 280 ° C, and by reaction of the photochemical dehydrocyclization of compound **16** and **24** in ethanol with added iodine by illuminating with UV-Hg lamp of 400 W. Corresponding carboxylic acids **5**, **8** i **26** were prepared by acidic hydrolysis of cyano substituted derivatives **4**, **17** i **25**. In the reaction of carboxylic acids **5**, **8** i **26** with thionyl-chloride corresponding acyl halogenides **6**, **19** and **27** were obtained.

N-carboxamido substituted benzimidazole[1,2-*a*]quinoline derivatives, **7**, **8**, **10–14**, **20–22** and **28–31** were synthesized in the reaction of benzimidazole[1,2-*a*]quinoline acyl halogenides **6**, **19** and **27** with corresponding amines in dry dichloromethane.

The structures of prepared compounds were confirmed by means of ¹H and ¹³C NMR, and characterized by UV/Vis and fluorimetric spectroscopy. The spectroscopic properties of target derivatives **7**, **8**, **10–14**, **20–22** and **28–31** were studied by UV / Vis spectroscopy while the fluorimetric tests were conducted for the three *N*-substituted piperidinyl derivatives **7**, **20** and **28**.

Key words: benzimidazoles, carboxamido substituted benzimidazole[1,2-*a*]quinolines, ¹H and ¹³C NMR, UV/Vis and fluorimetric spectroscopy.



Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Marijane Hranjec i neposrednim vodenjstvom dr. sc. Nataše Perin u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost br. 5596 *Synthesis and cytostatic evaluations of novel nitrogen heterocycles library*.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Općenito o benzimidazolima.....	4
2.2. Biološki aktivni ciklički derivati benzimidazola	6
2.2.1. Ciklički derivati benzimidazola kao potencijalni antitumorski agensi	6
2.2.2. Ciklički derivati benzimidazola kao potencijalni antimikrobni agensi	22
3. REZULTATI I RASPRAVA	44
3.1. Cilj rada.....	45
3.2. Sinteza ciljanih spojeva.....	46
3.3. Spektroskopska karakterizacija priređenih spojeva.....	64
3.3.1. UV/Vis spektroskopija	64
3.3.2. Fluorimetrijska spektroskopija	67
4. EKSPERIMENTALNI DIO	69
4.1. Opće napomene.....	70
4.2. Sinteza derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina-6-karboksamida.....	71
4.2.1. Priprava 2-(2-benzimidazolil)-3-(2-klorfenil)akrilonitrila 3	72
4.2.2. Priprava 6-cijanobenzimidazo[1,2-a]kinolina 4	72
4.2.3. Priprava benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karboksilne kiseline 5	72
4.2.4. Priprava benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-karbonilklorida 6	73
4.2.5. Priprava (benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-il)(piperidin-1-il)metanona 7	73
4.2.6. Priprava (benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-il)(piperazin-1-il)metanona 8	73
4.2.7. Priprava (benzimidazo[1,2-a]kinolin-6-il)(4- <i>N</i> -metilpiperazin-1-il)metanona 10	74
4.2.8. Priprava <i>N</i> -izobutil(benzimidazo[1,2-a]kinolin)-6-karboksamida 12	75
4.2.9. Priprava <i>N,N</i> -dimetilaminopropil(benzimidazo[1,2-a]kinolin)-6-karboksamida 13	75
4.2.10. Priprava <i>N,N</i> -dietilaminoetil(benzimidazo[1,2-a]kinolin)-6-karboksamida 14	76
4.3. Sinteza derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina-2,6-dikarboksamida	77
4.3.1. Priprava 2-(2-benzimidazolil)-3-(4-cijanofenil)akrilonitrila 16	78
4.3.2. Priprava 2,6-dicijanobenzimidazo[1,2-a]kinolina 17	78
4.3.3. Priprava benzimidazo[1,2-a]kinolin-2,6-dikarboksilne kiseline 18	78
4.3.4. Priprava benzimidazo[1,2-a]kinolin-2,6-dikarbonilklorida 19	79
4.3.5. Priprava [6-(piperidin-1-karbonil)benzimidazo[1,2-a]kinolin-2-il]-(piperidin-1-il)metanona 20	79
4.3.6. Priprava <i>N</i> -izobuti(benzimidazo[1,2-a]kinolin)-2,6-dikarboksamida 21	79
4.3.7. Priprava <i>N,N</i> -dimetilaminopropil(benzimidazo[1,2-a]kinolin)-2,6-dikarboksamida 22	80
4.4. Sinteza derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina-2-karboksamida.....	81
4.4.1. Priprava <i>E</i> -2-[2-(<i>p</i> -cijanofenil)etenil]benzimidazola 24	82
4.4.2. Priprava 2-cijanobenzimidazo[1,2-a]kinolina 25	82
4.4.3. Priprava benzimidazo[1,2-a]kinolin-2-karboksilne kiseline 26	82
4.4.4. Priprava benzimidazo[1,2-a]kinolin-2-karbonilklorida 27	82
4.4.5. Priprava (benzimidazo[1,2-a]kinolin-2-il)(piperidin-1-il)metanona 28	83
4.4.6. Priprava <i>N</i> -izobutil(benzimidazo[1,2-a]kinolin)-2-karboksamida 30	84
5. ZAKLJUČAK.....	85
6. LITERATURA	88
7. ŽIVOTOPIS.....	93
8. PRILOZI	97

1. UVOD

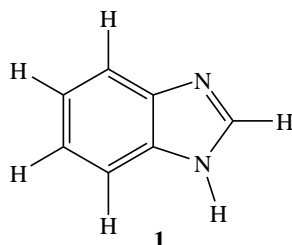
Maligne bolesti su vodeći zdravstveni problem današnjice. Posljednih nekoliko desteljeća poboljšane su metode otkrivanja zloćudnih bolesti kao i dijagnostičke mogućnosti, ali usprkos tome, broj oboljelih od ovih bolesti i dalje raste.¹ Udruga Cancer research UK objavila je da je 2012. godine u svijetu od raka umrlo 8.2 milijuna ljudi.² Istraživanje je pokazalo da u Hrvatskoj godišnje od raka oboli 25000 ljudi od čega oko 12500 umre.¹ Kirurška odstranjivanja, zračenja i kemoterapije najpoznatiji su načini borbe s ovom bolešću ali nažalost njihova učinkovitost je nedovoljna i štetna za ostatak organizma. Upravo iz ovog razloga, veliki broj istraživača, posebice medicinskih kemičara i dalje radi na razvoju novih, učinkovitijih i selektivnijih antitumorskih agenasa.

Terapeutski potencijal benzimidazolne jezgre otkriven je još 1950. godine kad je u strukturi vitamina B₁₂ utvrđena struktura 5,6-dimetil-1-(α -D-ribofuranozil)benzimidazola. Nakon više godina aktivnog istraživanja, benzimidazoli su postali jedna od najvažnijih grupa heterocikličkih spojeva zbog prisutnosti benzimidazolne jezgre u strukturi brojnih prirodnih i terapeutskih agenasa poput antimikrobnih, antivirusnih, antiparazitnih, antitumorskih, protuupalnih, antioksidativnih, antifungalnih, i mnogih drugih. Različiti supstituenti na benzimidazolskoj jezgri osiguravaju širok raspon bioloških aktivnosti supstituiranih derivata i njihovih kondenziranih cikličkih derivata te čine benzimidazolsku jezgru važnim farmakoforom za razvoj novih terapeutskih agenasa.³ Različiti derivati benzimidazola s različitim farmakološkim aktivnostima razvijaju se danas na temelju klasičnog kemijsko-medicinskog pristupa korelacije strukture i biološke aktivnosti, *eng.* Structure-Activity Relationship (SAR).⁴ Medicinski kemičari koriste razne tehnike organske kemijske sinteze kako bi u biomolekule ugradili nove kemijske skupine i tako modificiranim biomolekulama ispitali biološke aktivnosti.

2. OPĆI DIO

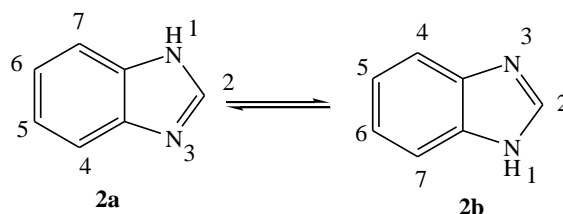
2. 1. Općenito o benzimidazolima

Benzimidazoli su heterociklički aromatski organski spojevi čija se biciklička struktura sastoji od peteročlanog imidazolskog prstena kondenziranog na benzensku jezgru kao što je prikazano na Slici 1:



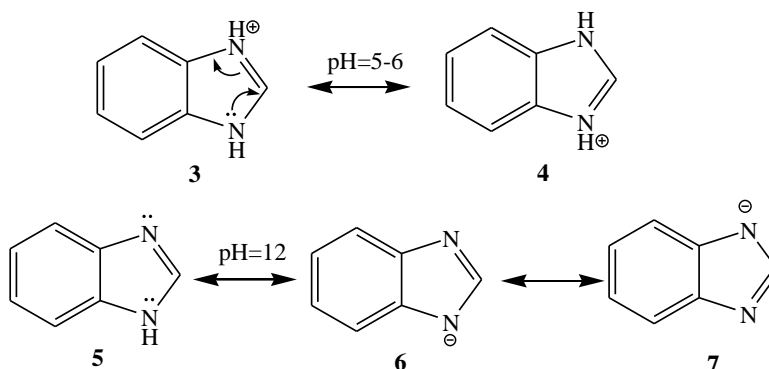
Slika 1. Struktura benzimidazola

Benzimidazolna jezgra dolazi u dvije tautomerne strukture, **2a** i **2b** prikazane na Slici 2:



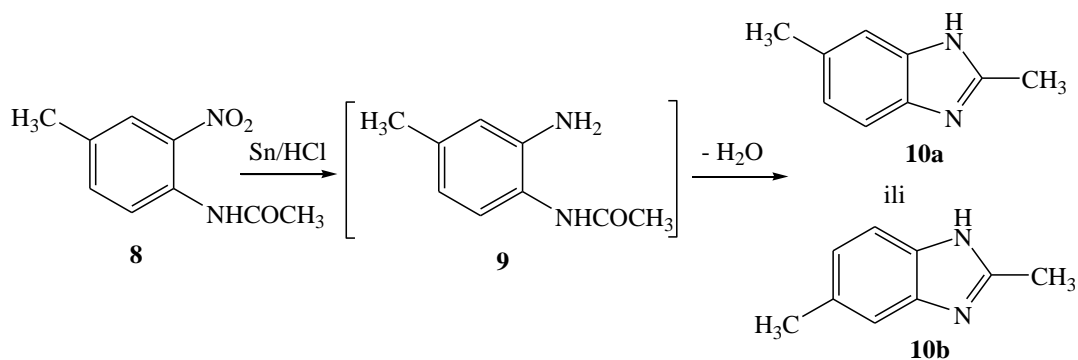
Slika 2. Tautomerne strukture benzimidazolne jezgre

Heteroatomi dušika u strukturi benzimidazola imaju različiti karakter budući da N atom na koji je vezan atom vodika pripada aromatskom sustavu te se može alkilirati ili acilirati, dok drugi N atom nije dio aromatskog sustava te se može samo protonirati. Iz navedenog razloga taj dušikov atom je u kiselom mediju protoniran, a u lužnatom deprotoniran kao što je prikazano na Slici 3 :

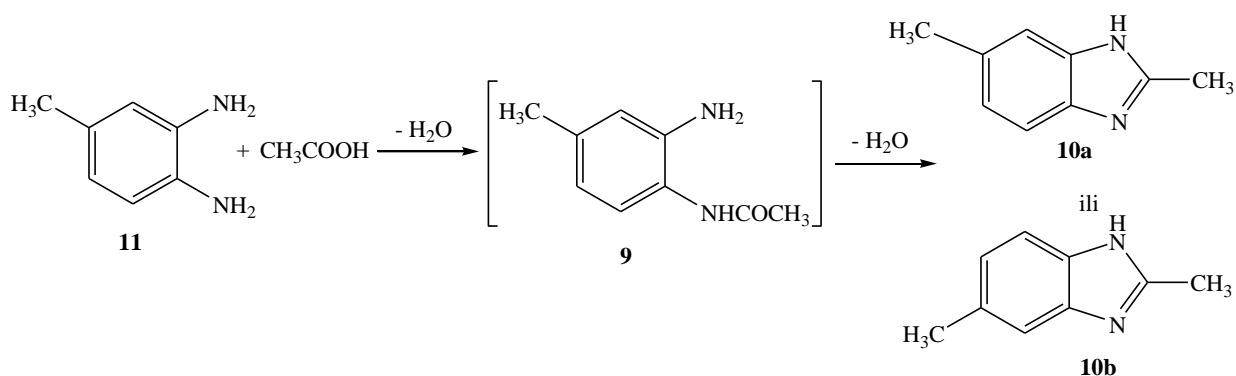


Slika 3. Ponašanje benzimidazolske jezgre u kiselom i lužnatom mediju

Prvi benzimidazol, 2,5 ili 2,6-dimetilbenzimidazol, pripravljen je još 1872. godine reakcijom redukcije 2-nitro-4-metilacetanilida prikazanoj na Shemi 1, a nekoliko godina kasnije isti spoj pripravljen je refluksom 3,4-diamino toluena s octenom kiselinom kao što je prikazano na Shemi 2.⁴



Shema 1. Sinteza prvog benzimidazola iz 2-nitro-4-metilacetanilida



Shema 2. Sinteza prvog benzimidazola refluksom 3,4-diaminotoluena s octenom kiselinom

Supstituirani benzimidazoli te njihovi ciklički derivati privukli su značajnu pažnju medicinskih i organskih kemičara zbog širokog spektra bioloških aktivnosti koje pokazuju. Prisutnost ovih strukturnih fragmenata u mnogim terapijskim agensima kao što su antiparazitici, antikonvulzivi, analgetici, antihistaminici, antiviroci i anti-HIV agensi, protuupalni lijekovi, antitumorski, inhibitori protonske pumpe i antioksidansi doprinjela je važnosti benzimidazolske jezgre u medicinskoj kemiji i razvoju novih lijekova. Najčešće korišteni kemoterapeutske agensi, poput mnogih derivata benzimidazola u terapiji raka, obuhvaćaju molekule koje stupaju u interakciju s dvostrukom uzvojnicom molekule DNK kao interkalatori ili „groove binders-i” što im omogućava interkaliranje između susjednih parova baza u molekuli DNK te inhibiciju aktivnosti individualnih gena.⁵

2.2. Biološki aktivni ciklički derivati benzimidazola

Benzimidazolska jezgra može se svrstati u najvažnije derivate heterocikličkih spojeva budući da je strukturni element mnogih prirodnih i sintetskih biomolekula gdje se ponaša na različite načine i utječe na posjedovanje različitih farmakoloških svojstava. Iako svih sedam položaja na benzimidazolskoj jezgri mogu biti supstituirani različitim supstituentima, najbolju biološku aktivnost pokazuju derivati koji funkcionalne skupine sadrže na položajima 1 i 2 i/ili 5(6). Prema tome, derivati benzimidazola mogu biti mono-, di- ili tri-supstituirani.³

Benzimidazolska jezgra ima strukturnu sličnost s purinom, čiji su derivati poznati po ključnoj ulozi u funkciji biološki važnih molekula poput DNK, RNK i različitih proteina. Osim toga, benzimidazoli predstavljaju glavnu okosnicu u mnogim sintetskim, medicinskim i biokemijskim agensima posjedovanjem različitih kemijskih i farmakoloških značajki koje uzrokuju različitost bioloških svojstava poput antitumorskih, antivirusnih, antibakterijskih, antifungalnih, antihistaminičkih i antikoagulantnih svojstava.⁶ Benzimidazolski prsten je važan farmakofor u medicinskoj kemiji za dizajn novih i učinkovitijih modernih lijekova. Različiti derivati benzimidazola se upotrebljavaju u kliničkom liječenju a neki od njih su *tiabendazol* i *flubendazol* (antihelmintici), *omeprazol* i *lanzoprazol* (inhibitori protonske pumpe) i *astemizol* (antihistaminik) te mnogi drugi. Gotovo svi derivati benzimidazola u svom bicikličkom sustavu nose različite funkcionalne skupine što dovodi do osnovnih razlika u fizikalno-kemijskim, metaboličkim i farmakokinetičkim svojstvima ovih lijekova.⁷

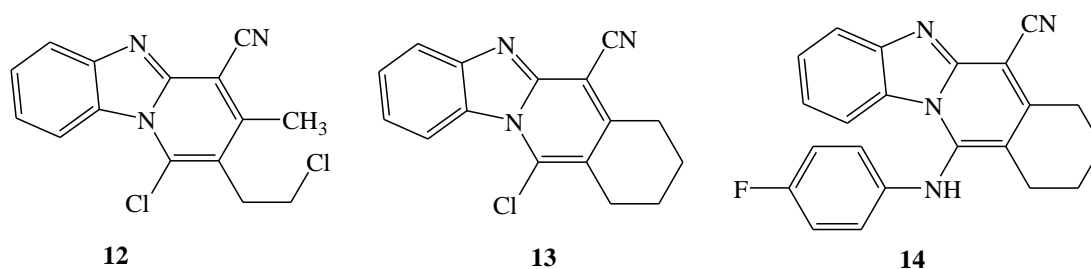
2.2.1. Ciklički derivati benzimidazola kao potencijalni antitumorski agensi

Jedan od najvažnijih ciljeva medicinske kemije je razvoj i dizajn novih heterocikličkih spojeve s antitumorskim (antiproliferativnim, antineoplastičnim) djelovanjem koji bi posjedovali zadovoljavajuću selektivnost. Zbog ranije navedenih značajki benzimidazolska jezgra, kao izoster purina, već dugi niz godina zauzima veliku pažnju među medicinskim i organskim kemičarima kao važan kromofor i strukturna jedinica koja se ugrađuje u strukture novih potencijalnih antitumorskih agensa.

1999. godine A. M. Badawey i T. Kappe⁸ objavili su sintezu pirido[1,2-*a*]benzimidazola (PBI) koji posjeduju antineoplastično djelovanje (Slika 4). U njihovim prethodnim istraživanjima utvrđeno je da 1-klor-2-(2-kloretil)-3-metilpirido[1,2-*a*]benzimidazol-4-

karbonitril **12** posjeduje dobru *in vitro* aktivnost i selektivnost posebno izraženu prema staničnim linijama karcinoma koštane srži odnosno leukemije.

Međutim, kod strukturno sličnog spoja **13** potvrđena je slaba *in vivo* aktivnost prema staničnim linijama P388 karcinoma leukemije kod miševa. U potrazi za citotoksičnim kandidatima s poboljšanim antineoplastičnim djelovanjem, Badawey i Kappe su triciklički PBI prstenasti sustav u spoju **12** zamijenili s drugim *N*-heterocikličkim prstenom no dizajnirani spojevi su imali slabiju antineoplastičnu aktivnost. Ovo je dovelo do pretpostavke da je PBI prstenasti sustav velikim dijelom ključan i odgovoran za biološku aktivnost. Iz ovih razloga a i zbog dodatnih informacija u pogledu SAR studije, navedeni istraživači proveli su sintezu novih cikloalkilpirido[1,2-*a*]benzimidazola u cilju poboljšanja njihovog antitumorskog djelovanja. Spoj **13** je bio od izrazitog interesa zbog velike strukturne sličnosti sa spojem **12**, međutim dobiveni rezultati nisu pokazivali nikakva poboljšanja u aktivnosti. Zanimljivo, 5-(*p*-fluorfenilamino)-supstituirani derivat **14** pokazao je dobru *in vitro* antitumorsku aktivnost. Strukture spojeva **12**, **13** i **14** prikazane su na Slici 4:



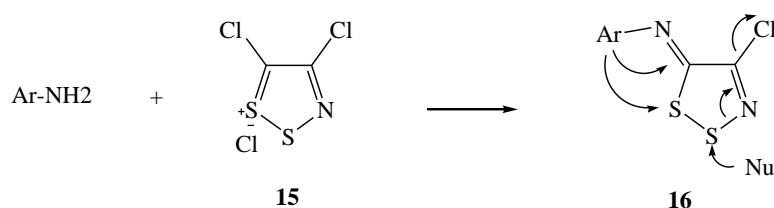
Slika 4. Strukture spojeva **12**, **13** i **14**

Priređenim spojevima ispitan je antineoplastični učinak *in vitro* na 60 staničnih linija humanih karcinoma iz sedam klinički izoliranih tipova karcinoma (pluća, debelog crijeva, melanoma, bubrega, jajnika, mozga i leukemije) prema standardnom protokolu NCI-a (National Cancer Institute). 5-(*p*-fluorfenilamino) derivat **14** je pokazao najveću aktivnost u ovoj seriji posebno prema K-562, Molt-4 i RPMI-8226 staničnim linijama leukemije, KM12 staničnim linijama debelog crijeva, M14 staničnim linijama melanoma, ACHN staničnim linijama bubrega i T-47D staničnim linijama dojke. Konačno na temelju dotadašnjih istraživanja zaključeno je da je strukturna jedinica pirido[1,2-*a*]benzimidazola nužna za biološku aktivnost a odgovarajućim supstituentima se može ta aktivnost dodatno povećati kao u slučaju spojeva **12** i **14**.

Godinu dana kasnije C. Lamazzi i suradnici⁹ objavili su sintezu derivata 6-cijanobenzimidazo [1,2-*c*]kinazolina iz 2-(2-aminofenil)benzimidazola te 4,5-dikloro-1,2,3-ditiazol-klorida **15**.

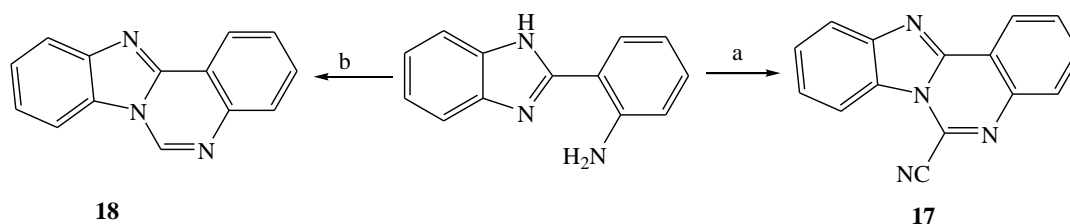
Ispitana je citotoksičnost i djelovanje ovog spoja na rast stanica.

Iz literature je poznato da se reakcijom 4,5-dikloro-1,2,3-ditiazol-klorida s primarnim aromatskim aminima priređuju *N*-arilimino-1,2,3-ditiazoli **16** kao što je prikazano na Shemi 3. Ovakvi su imini vrlo korisni sintetski intermedijeri u heterocikličkoj kemiji jer podliježu različitim reakcijama iniciranim nukleofilnim napadima na različita mjesta ditiazolskog prstena. Oni mogu biti vrlo lako prevedeni u 2-cijano derivate benzotiazola, benzoksazina, imidazola i kinazolina.



Shema 3. Reakcija nastajanja *N*-arilimino-1,2,3-ditiazola

Novi analog benzimidazo[1,2-*c*]kinazolina **17** priređen je reakcijom 2-(2-aminofenil)benzimidazola s 4,5-dikloro-1,2,3-ditiazol-kloridom **15** na sobnoj temperaturi u prisustvu piridina kao što je prikazano na Shemi 4. U cilju proučavanja utjecaja cijano skupine na biološku aktivnost, benzimidazo[1,2-*c*]kinazolin **18** priređen je reakcijom ciklokondenzacije trietilortoformata s 2-(2-aminofenil)benzimidazolom u *N,N*-dimetilacetamidu prema Shemi 4.

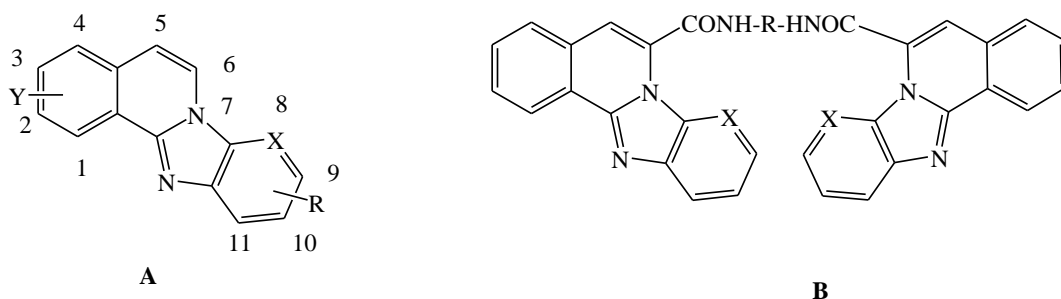


Shema 4. Reakcije i uvjeti : (a) piridin, CH_2Cl_2 , 2h, 50%; (b) $\text{HC}(\text{OEt})_3$, dimetilacetamid, refluks, 1.5h, 85%

Antiproliferativni učinak spojeva ispitan je na limfocitnim stanicama leukemije L1210 kod miševa i humanim staničnim linijama adenokarcinoma HT29. Iz dobivenih rezultata je zaključeno da cijanobenzimidazokinazolin **17** ima veći antiproliferativni učinak u odnosu na njegov analog bez cijano skupine **18** čime je potvrđena pretpostavka da je cijano skupina važna za biološku aktivnost.

Iste godine L. W. Deady i suradnici¹⁰ objavili su sintezu niza benzimidazo[2,1-*a*]izokinolina s karboksamidnim bočnim lancima na položajima 1-, 6-, 9- i 11 u cilju ispitivanja utjecaja položaja bočnog lanca u tetraciklima na biološka svojstva pripremljenih spojeva.

Analozi 6-, 9- i 11- pripremljeni su korištenjem različitih literaturnih procedura. Karboksamidni analog 1-, dobiven je isokumarin/izokinolon konverzijom 3-metilisokumarin-8-karboksilne kiseline s *o*-fenilendiaminom u puferu anorganske kiseline. Spojevi su razvijeni u kulturama staničnih linija pri čemu je pronađeno da 6-karboksamidi, s bočnim lancem na jednom od centralnih prstenova, nisu aktivni, dok su analozi 1- i 11-, s bočnim lancima na krajnjim prstenovima, pokazali razumnu citotoksičnost ($IC_{50} < 1\mu M$). Opća strukture pripremljenih derivata prikazana je na Slici 5 dok su njihova inhibitorska svojstva prikazana u Tablici 1.



Slika 5. Opće strukture benzimidazo[2,1-*a*]izokinolina i odgovarajućih pirido[3',2':4,5]imidazo[2,1-*a*]izokinolina

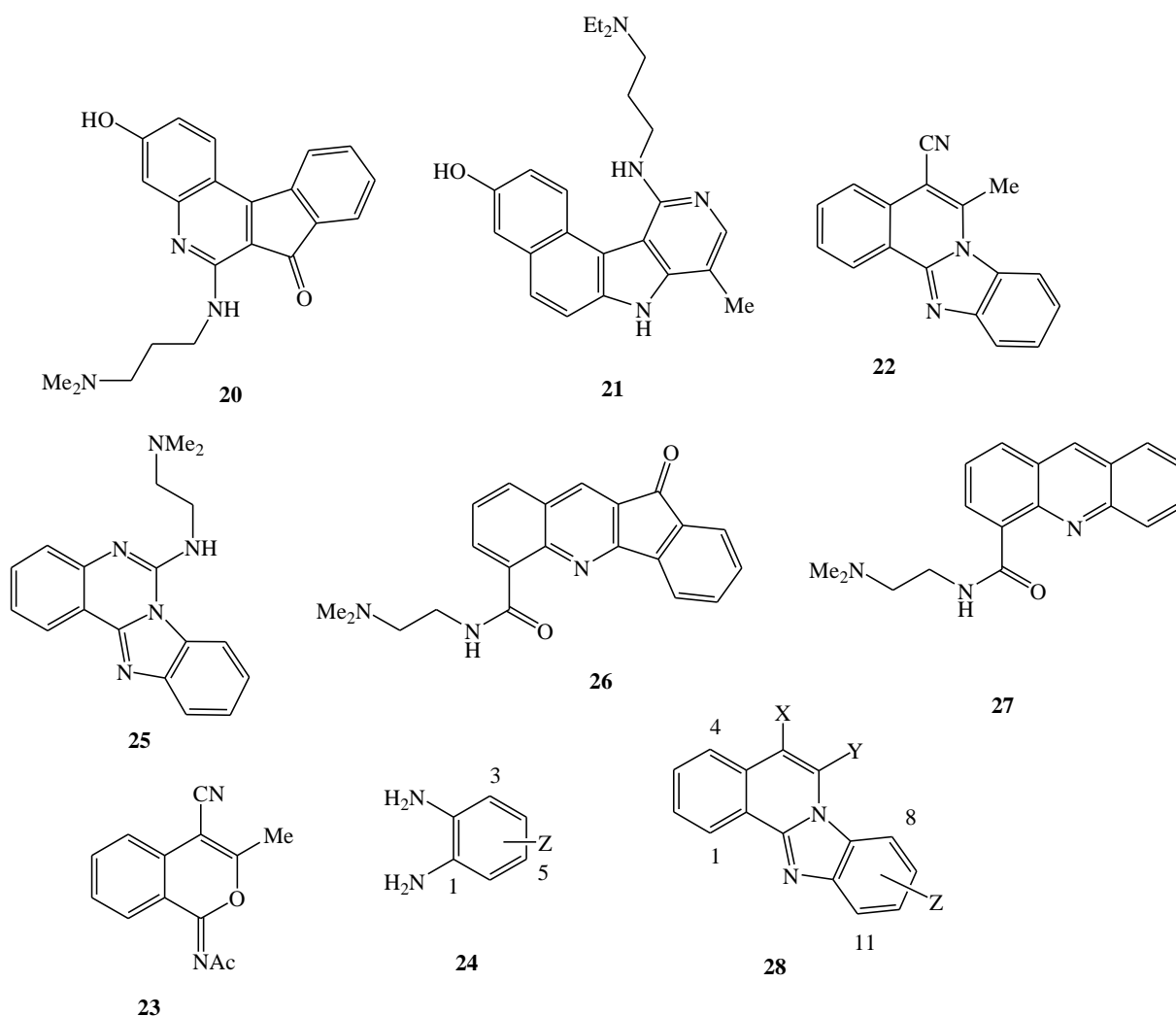
Tablica 1. Podatci inhibitorskih koncentracija odgovarajućih derivata **19a-j** u usporedbi sa spojem **20**

Spoj	Oblik	X	Y	R	IC_{50} (μM) ^a		
					P388 ^b	LL ^c	JLc ^d
19a	A	CH		6-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	16	>5	>5
19b	A	CH		6-CONH(CH ₂) ₂ Npiperidide	>20	>10	>10
19c	A	N		6-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	1,2	2,51	>5
19d	A	CH	6-Me	1-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	1,3	2,3	5,1
19e	A	CH	6,11-diMe	1-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	0,083	0,12	0,37
19f	A	CH	5-CN, 6-Me	9-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	0,26	0,22	0,58
19g	A	CH	5-CN, 6-Me	11-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	1,3	0,12	0,19
19h	A	CH	5-CN, 6-Me, 9-Cl	11-CONH(CH ₂) ₂ NMe ₂	0,31	0,44	0,46
19i	B	CH		(CH ₂) ₂ NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₂	>20	>2	1,74
19j	B	N		(CH ₂) ₂ NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₂	>20	>2	1,15
20	TAS 103				0,0025	0,0015	0,0054

^a IC_{50} ; koncentracija lijeka potrebna za 50 % inhibicije biološke aktivnosti nekog procesa ili organizma; ^b Mišja P388 leukemija; ^c Mišji Lewis karcinom pluća; ^d Ljudska Jurkat leukemija

Novi spojevi pokazali su umjerenu potentnost u linijama staničnog panela, i svi osim **19e** pokazuju barem jednaku potentnost u divljem tipu i mutantnim Jurkatovim linijama, što ukazuje na dvostruki topo I/II način djelovanja. Nasuprot njima, klinički dostupan tetraciklički DNA vezač **20** je puno citotoksičniji ali pokazuje visoku poprečnu rezistenciju u mutantnim Jurkat linijama. Rezultati za 6-karboksamide **19a** i **19b** pokazuju da karboksamidni bočni lanac na jednom od centralnih prstenova kromofore nije koristan za povećanje aktivnosti. S druge strane, pozicioniranje bočnog lanca na krajnji prsten i na kratkoj osi kromofore vodi potentnijim citotoksini **19d** i **19e**. Ovdje je prisutna ista relativna pozicija karboksamidnih bočnih lanaca kao u indeno[1,2-*b*]kinolinu **26** i **27**. Međutim, značajni porast u potenciji između **19d** i **19e** pokazuje, da u sklopu određene subklase, ostali kromoforni substituenti također utječu na potencijalnost. U ovom slučaju, adicija metilne skupine na željenu 11- poziciju značajno poboljšava potentnost, sa spojem **19e** kao najaktivnijim u subklasi. Sličan efekt uočen je i kod adicije metilne skupine na srodnu 5- poziciju u spoju **27**. Iznenadujuće, 9-karboksamid **19f**, s bočnim lancem na krajnjem prstenu i na dužoj osi kromofore, pokazuje razumnu aktivnost što nije slučaj kod analoga akridin- i okso-11*H*-indeno[1,2-*b*]-kinolinokarboksamida. 11-karboksamidi **19g** i **19h**, s bočnim lancima protivno favoriziranoj poziciji, su također umjereno potentni citotoksini s esencijalnim ekvivalentom citotoksičnosti preko panela stanične linije. Usporedbom **19a** i **19c** može se uočiti da je piridokinolinski analog **19c** značajno potentniji od odgovarajućeg benzikinolinskog analoga. Spojevi **19i** i **19j** su bis analozi 6-karboksamida **19a** i **19c**. Prethodna istraživanja pokazala su da su bis analozi bitno više citotoksični od odgovarajućih monomera. Ipak, bis-analozi **19i** i **19j** pokazali su malo poboljšanje u odnosu na njihove monomere, ponovno ukazujući da 6- pozicija nije odgovarajuća za stvaranje vezne točke u ovim kromoforima. Naposljetku, komponenti s najvećom citotoksičnošću, 1- karboksamidu **19e**, ispitana je *in vivo* aktivnost na mišjim stanicama karcinoma debelog crijeva. Spoj **19e** dokazao je visoku aktivnost s odgodom rasta od 12 dana, što je usporedivo s onom kod spoja **27**. Zanimanje za kutne cikličke kromofore započelo je otkrićem njihovog djelovanja kao antitumorskih agenasa, dvostrukom inhibicijom enzima topoizomerase I i II. Spoj **20**, klinički poznat kao TAS 103 i eksperimentalni spoj intoplicin **21**, primjeri su inhibitora enzima topoizomerase I i II. Nekoliko studija je pokazalo da je pozicioniranje kationskog bočnog lanca na krajnji prsten, kratke osi kromofore, važno za dobru biološku aktivnost. Struktura spoja **20**, je stoga od posebnog interesa budući da je bočni lanac pričvršćen za jedan od centralnih prstenova. Tijekom razvoja lijekova s antitumorskim djelovanjem sintetiziran je

tetraciklički benzimidazo[2,1-*a*]izokinolin **22** reakcijom spoja **23** s **24** u kipućem trietilaminu i dioksanu. Zasebna studija pokazala je sintezu odgovarajućeg derivata benzimidazo[1,2-*c*]kinazolina **25** kao pripadnika nove skupine antitumorskih spojeva. Konačno, u cilju ispitivanja antitumorskih svojstava, sintetizirani su derivati sjedinjenih tetracikličkih kinolina i kinoksalina *N*-[2-(dimetil-amino)etil]karboksamidi, npr. spoj **26**, modifikacijom akridinskog karboksamida **27** kao poznatog dvostrukog inhibitora topoizomeraza I i II. Uz dostupnost spoja **28** pripravljeni su različito supstituirani izomerni karboksamidi te je ispitana njihova citotoksičnost kako bi se istražila važnost topologije bočnih lanaca u kromofornom sustavu. Strukture navedenih spojeva prikazane su na Slici 6.

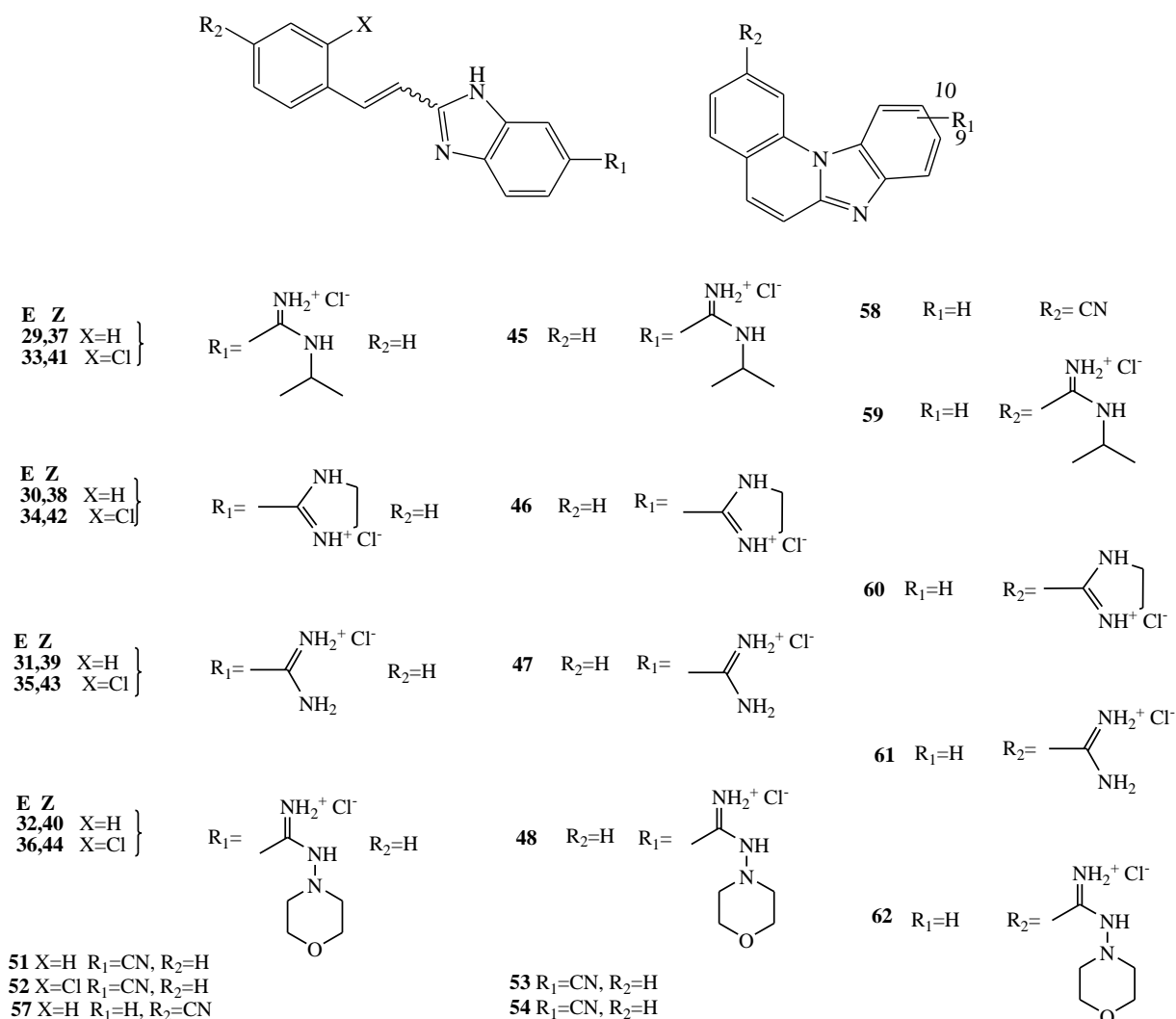


a: Z = H
b: Z = 3-aza
c: Z = 4-CO₂H
d: Z = 4-Cl, 6-CO₂H
e: Z = 3-Me
f: Z = CONH(CH₂)₂NMe₂

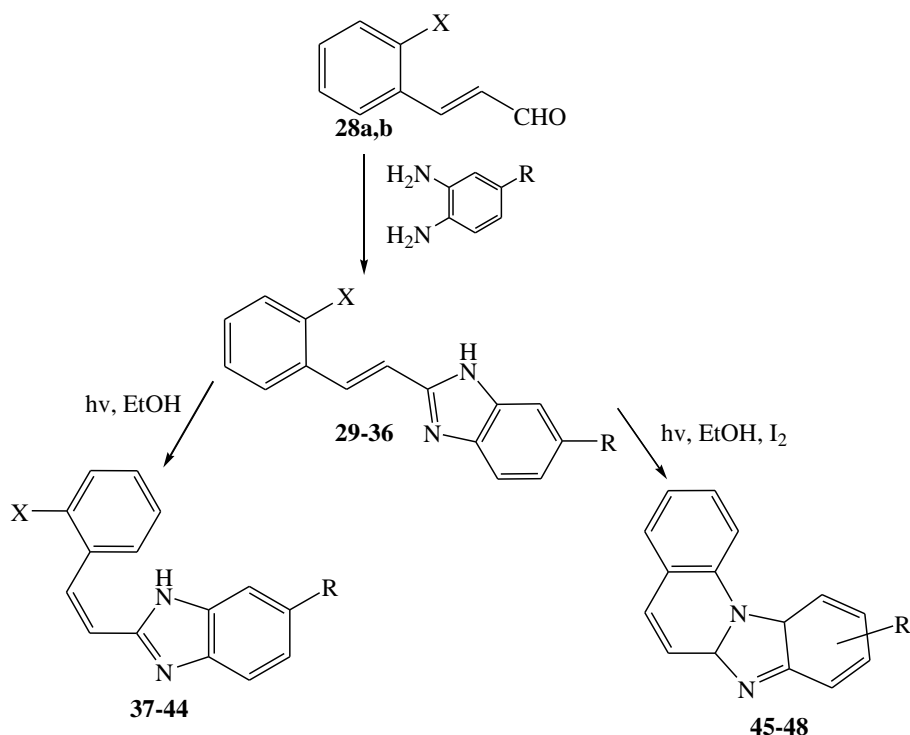
X	Y	Z
a: CN	Me	H
b: H	CO ₂ H	H
c: H	CO ₂ H	8-aza
d: CN	Me	9-CO ₂ H
e: CN	Me	9-Cl, 11-CO ₂ H

Slika 6. Strukture spojeva **20–28**

Svi spojevi prikazani na Slici 7 pripravljeni su prema Shemama 5, 6 i 7. Novi *N*-amidino supstituirani *E*-2-stiril-1*H*-benzimidazoli **29–36** dobiveni su kondenzacijom *orto*-supstituiranih 3-fenil-propenala **28a,b** s 4-*N*-amidino supstituiranim 1,2-fenilendiaminima i *p*-benzikinonom u 49-74%-tnom iskorištenju. Cijano supstituirani *E*-2-stiril-1*H*-benzimidazoli **51 i 52** priređeni su reakcijom *o*-supstituiranih benzaldehida i 6-cijano-2-metilbenzimidazola, dok su *N*-amidino-supstituirani *Z*-2-stiril-1*H*-benzimidazoli **37-44** dobiveni fotokemijskom izomerizacijom u etanolu s 60-78%-tnim iskorištenjima.

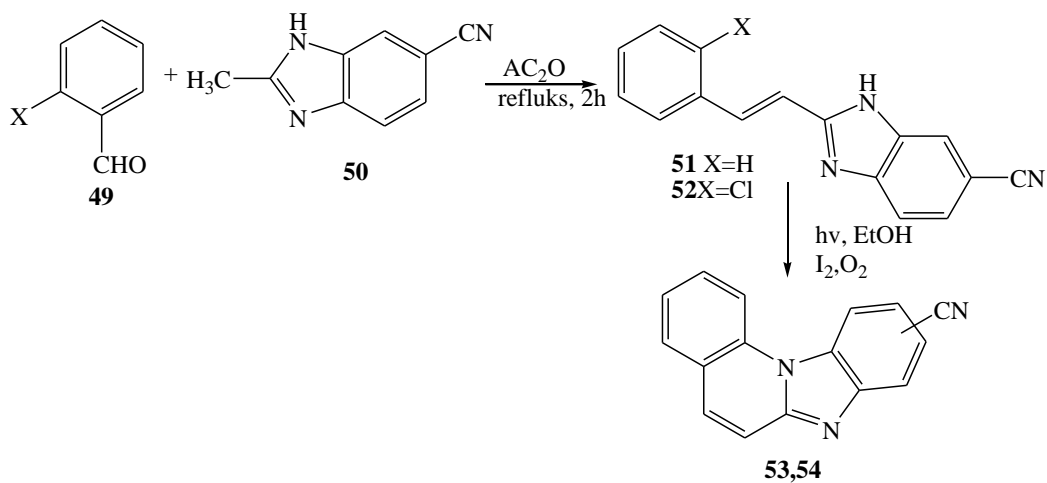


12

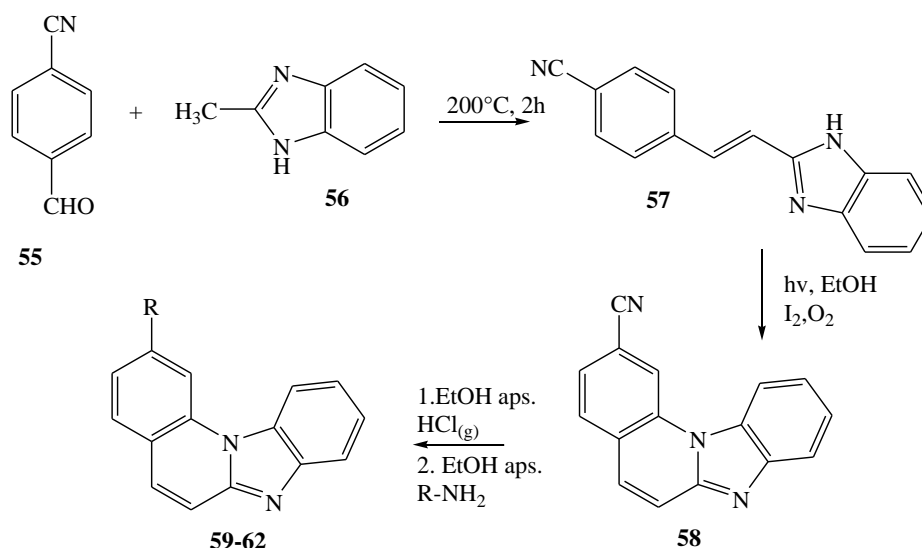


Shema 5. Sinteza amidino-supstituiranih derivata *E*- i *Z*-stiril-2-benzimidazola **29-44** i benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **45-48**

Novi *N*-amidino i cijano supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini **45-48**, **53**, **54** i **58** pripremljeni su fotokemijskom dehidrociklizacijom, dok su fotokemijskom dehidrohalogenacijskom ciklizacijom iz *N*-amidino supstituiranih *E*-2-stiril-1*H*-benzimidazola **29-36** u etanolu priređeni spojevi **45-48**. Dobivene su smjese izomera spojeva **45-48** u iskorištenju 31–40%.



Shema 6. Sinteza cijano-supstituiranih derivata *E*-stiril-2-benzimidazola **51-52** i benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **53-54**

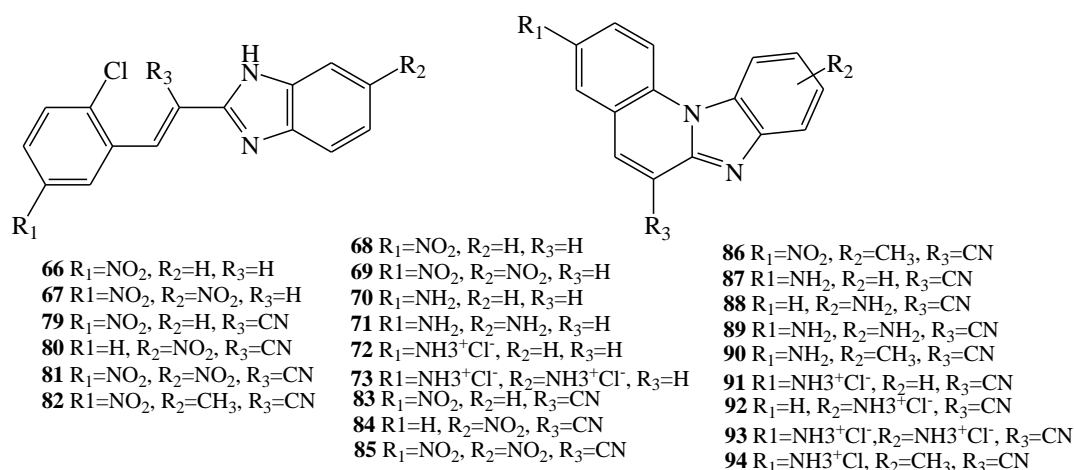


Shema 7. Sinteza cijano- i amidino-supstituiranih benzimidazo[1,2-a]kinolina **58–62**

U cilju utvrđivanja nekovalentnih interakcija navedenih spojeva s DNK provedeni su eksperimenti ispitivanja interakcije acikličkih derivata **29–32** i **37–39** te njihovih cikličkih analoga **36–39** i **50–53** s ct-DNK korištenjem spektrofotometrijskih UV-Vis, fluorimetrijskih i CD titracija. Dobiveni rezultati pokazali su da aciklički derivati **29–32** i **37–39** ne stabiliziraju ct-DNK dok njihovi ciklički analozi značajno stabiliziraju dvostruku uzvojnicu DNK. Na osnovi dobivenih rezultata utvrđeno je da su svi ispitivani benzimidazo[1,2-a]kinolini DNK interkalatori dok se aciklički derivati vežu u manji utor DNK. Svim navedenim spojevima ispitan je antiproliferativni učinak na sedam humanih staničnih linija, šest staničnih linija humanih karcinoma HeLa (stanične linije karcinoma grlića maternice), MCF-7 (linije karcinoma dojke), SW620 (stanice karcinoma debelog crijeva), MiaPaCa-2 (linije karcinoma gušterače), Hep-2 (stanice karcinoma grkljana) i H460 (stanice karcinoma pluća) te normalne diploidne fibroblaste, WI 38. Svi ispitani spojevi pokazali su izraženu antitumorsku aktivnost, pri čemu su gotovo svi aciklički derivati pokazali djelovanje prema staničnim linijama HeLa i MCF-7. Ciklički derivati pokazali su 2-10 puta veću antitumorsku aktivnost od acikličkih analoga. Spoj **46** pokazao je posebno izraženu aktivnost i selektivnost prema stanicama SW620, a uz to uzrokuje zaustavljanje staničnog ciklusa smanjujući napredovanje mitoze te također djeluje kao inhibitor topoizomerase II.

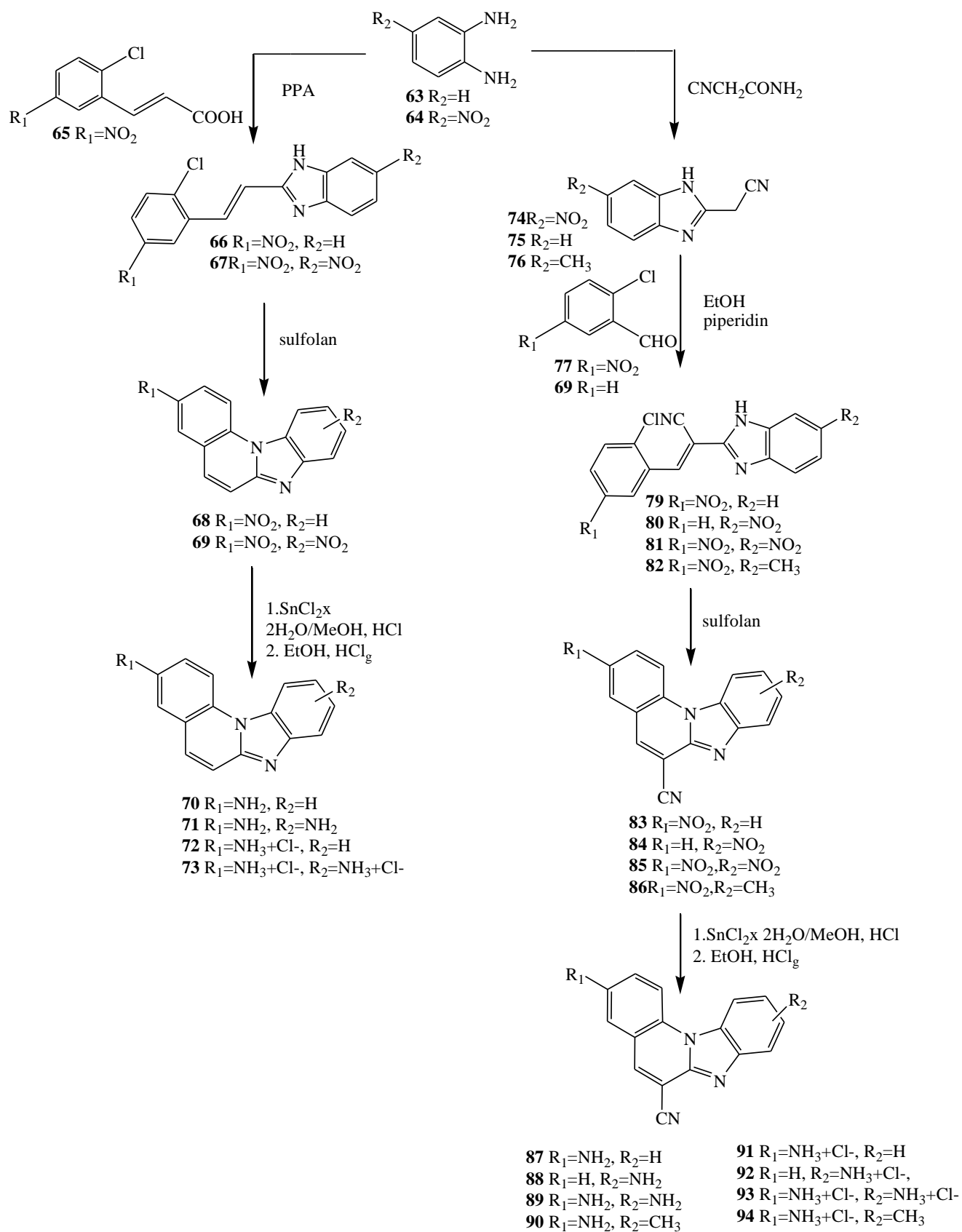
2011. godine N. Perin i suradnici⁶ objavili su sintezu i biološko djelovanje novih nitro supstituiranih *E*-2-stiril-benzimidazola i *E*-2-(2-benzimidazolil)-3-fenilakrilonitrila te nitro i amino supstituiranih benzimidazo[1,2-a]kinolina **66–67**, **68–73**, **79–82** i **83–94** prikazanih na Slici 8. Svi spojevi priređeni su prema Shemi 8 korištenjem uobičajenih metoda organske

sinteze za pripravu sličnih heterocikličkih spojeva počevši od odgovarajućih *o*-fenilendiamina **63–64**. *E*-2-stiril-benzimidazoli **66–67** pripremljeni su reakcijom ciklokondenzacije *E*-3-(2-kloro-5-nitrofenil)akrilne kiseline **65** s *o*-fenilendiaminima **63–64** u polifosfornoj kiselini (PPA). U reakciji *o*-fenilendiamina **63–64** s 2-cijanoacetamidom priređeni su odgovarajući supstituirani 2-cijanometilbenzimidazoli **74–76**. Oni pak nadalje u reakciji kondenzacije s aromatskim aldehydima **77–78** daju *E*-2-(2-benzimidazolil)-3-fenilakrilonitrile **79–82**.



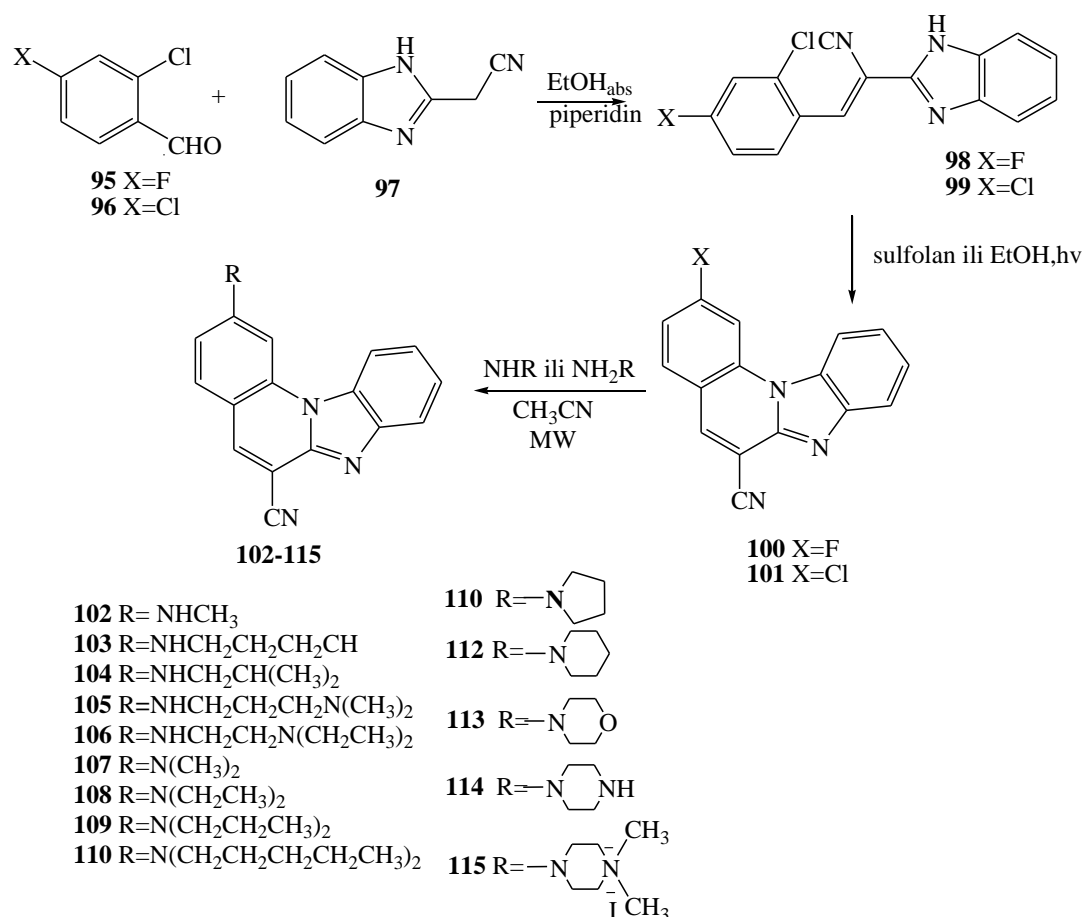
Slika 8. Pripremljeni *E*-2-stiril-benzimidazoli **66–67**, *E*-2-(benzimidazolil)-3-fenilakrilonitrili **79–82** i benzimidazoff[1,2-*a*]kinolini **68–73** i **83–94**

Ciklički nitro supstituirani derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **68–69** i **83–86** priređeni su termičkom ciklizacijom acikličkih prekursora **66–67** i **79–82** u sulfolanu. Amino supstituirani ciklički derivati **70–71** i **87–90** dobiveni su redukcijom nitro supstituiranih derivata **68–69** sa SnCl₂ × 2H₂O u MeOH i koncentriranoj HCl. Svi ispitani spojevi pokazali su značajnu inhibiciju staničnih linija humanih karcinoma (SW 620, HCT 116 (karcinomi debelog crijeva), H 460 (karcinom pluća), MCF-7 (karcinom dojke) te MOLT-4 (T-limfoblastična leukemija)) pri čemu je IC₅₀ vrijednost spojeva **73**, **82**, **90**, **91**, **92**, **94** u niskom mikromolarnom području (IC₅₀ = 2–19 μM). Spojevi **66**, **67**, **85**, **86** pokazuju umjerenu, a spojevi **73**, **82**, **90**, **91**, **92** i **94** izraženu antitumorsku aktivnost. Uglavnom nema značajnije razlike u selektivnosti prema staničnim linijama, osim kod spoja **66** koji pokazuje izrazitu selektivnost prema HCT 116, staničnim linijama karcinoma debelog crijeva. Fluorescentnom mikroskopijom uočena je citoplazmatska raspodjela spojeva, što pokazuje da DNK nije primarna meta navedenih spojeva. Prema tome, znatan antiproliferativni učinak ispitivanih spojeva je posljedica interakcija s drugim biološkim metama između stanica.



Shema 8. Sinteze spojeva 66–94

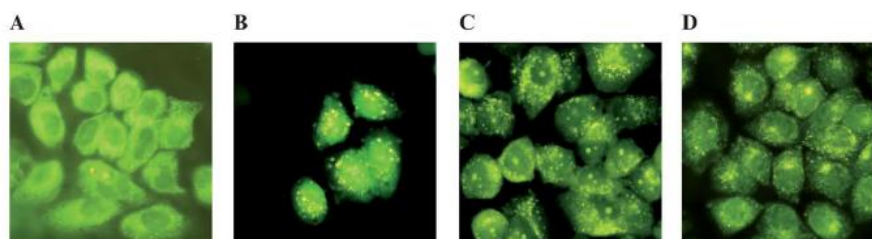
Dvije godine kasnije N. Perin i suradnici¹¹ objavili su sintezu i biološku aktivnost novih 2-supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina s različitim vrstama i duljinama amino lanaca na kinolinskoj jezgri. Na Shemi 9 prikazana je njihova sinteza nekataliziranim aminiranjem iz odgovarajućih klor(fluor)-supstituiranih prekursora uz pomoć mikrovalova.



Shema 9. Sinteza amino supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina

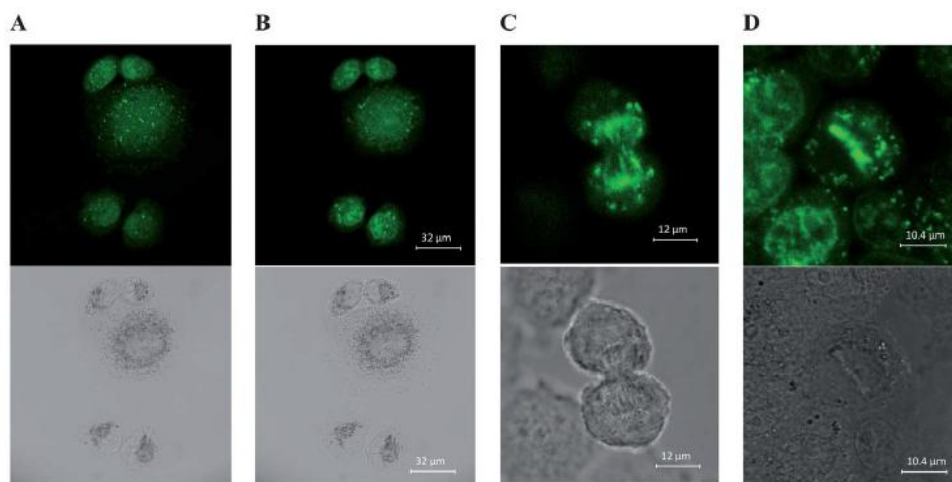
Benzanulirani benzimidazoli obično posjeduju konjugirane planarne kromofore koji im daju sposobnost interkaliranja između susjedne parove baza u DNK. Osim toga rezultati istraživanja pokazali su da amino lanci različite vrste i duljine mogu značajno povećati interakcije s DNK bazama, te povećavaju antitumorsko djelovanje bez obzira bili ciklički ili aciklički. Većina spojeva je pokazala aktivnost u submikromolarnom području IC₅₀ koncentracija. Spoj **102** s najkraćim sekundarnim aaminskim lancem pokazuje umjerenu aktivnost, ali jako izraženu selektivnost prema staničnim linijama karcinoma dojke MCF-7. S druge strane spoj **110** s najdužim tercijarnim aaminskim lancem pokazao je najmanju aktivnost, dok su najaktivniji spojevi **105**, **114** i **115**.

Kako bi se ispitala raspodjela priređenih spojeva unutar tumorskih stanica u svrhu ispitivanja mehanizama njihovog biološkog djelovanja, stanice H460 su inkubirane s ispitivanim spojevima i snimljene fluorescentnim mikroskopom. Ove stanice izabrane su za ispitivanje raspodjele ispitivanih spojeva zbog svog okruglastog oblika i relativno široke citoplazme čime omogućuju dobru vizualizaciju intercelularne raspodjele navedenih spojeva. Dobiveni rezultati pokazali su da svi spojevi pokazuju citoplazmatsku lokalizaciju osim spoja **105** koji pokazuje lokalizaciju u citoplazmi ali i u jezgri kao što se vidi na Slici 9.



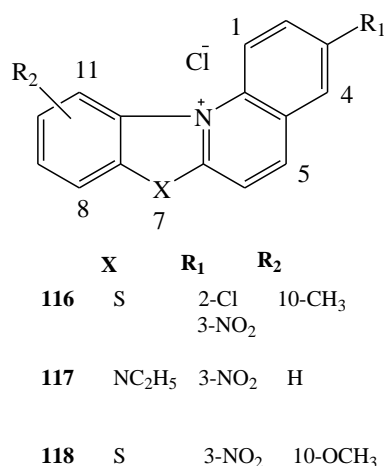
Slika 9. Fluorescentne mikroskopske slike H460 stanica tretiranih 2h sa spojevima **104** (A), **105** (B), **114** (C) i **115** (D). 10 μ M koncentracija. Uvećanje 400x

Spoj **105** pokazao je najbolje bojenje uzorka te je stoga provedena konfokalna laserska mikroskopija H460 stanica koje su u tu svrhu 2h tretirane spojem **105** koncentracije 10 μ M. Kao rezultat dobiveno je intenzivno obojenje mitotičkih kromosoma čime je dokazan afinitet ovog spoja prema DNK.



Slika 10. Konfokalna laserska mikroskopija stanica H460 tretiranih 2h s 10 μ M koncentracijom spoja **105**. A i B predstavljaju dva optička profila snimljena na različitim razinama duž z-osi kroz iste stanice, a C i D intenzivno obojenje mitotičkih kromosoma. Gornje slike predstavljaju fluorescentne slike s detekcijom 424-527 nm, dok su ispod njih prikazane iste slike, ali s propuštajućim svijetlom.

Iste godine grupa istraživača na čelu s C. Velezom¹² ispitala je biološku aktivnost nitro supstituiranih benzazolo[3,2-*a*]kinolinskih soli NBQs, **116**, **117** i **118** zbog njihovog potencijalnog antitumorskog djelovanja. NBQs su neprirodni alkaloidi koji zbog posjedovanja pozitivnog naboja mogu imati olakšanu interakciju sa staničnim organelima. Strukturne značajke ove skupine komponenata prikazane na Slici 11 obuhvaćaju planarni heteroaromatski sustav s ugrađenim kvaterniziranim dušikom i stopljenu benzotiazolnu jezgru. Prethodna istraživanja ove skupine spojeva pokazala su obećavajuća biološka djelovanja poput antitumorske aktivnosti naspram P388 stanica leukemije i Ehrlich ascites tumora kod miševa. Prirodni spojevi sa strukturnim karakteristikama koje se preklapaju s mehanističkim značajkama benzazolo[3,1-*a*]kinolinskih soli su berberin i elipticin. Obje komponente pokazale su se kao induceri apoptoze. Nadalje, poznato je da NBQ derivati, slično kao i elipticin, stvaraju komplekse interkalacijom u dvostruku uzvojnicu DNA. Također, efektivno blokiraju DNA i RNA molekule, kao i sintezu proteina u objema, KB i Ehrlich ascites tumorskim stanicama. Nacionalni institut za rak (NCI) proveo je ispitivanje antikancerogenih svojstava NBQs komponenti **116**, **117** i **118** na 60 staničnih linija različite histologije. Testovi su provedeni pri koncentraciji od 10 μM na svim staničnim linijama. Rezultati instituta ukazali su na postojanje citotoksične aktivnosti kod šest staničnih linija te su sažeti u Tablici 2. U svrhu utvrđivanja mogućeg mehanizma djelovanja provedena su detaljna biološka ispitivanja spojeva **116** i **117** na A431 humanim epidermalnim stanicama karcinoma kako bi se odredio put apoptoze koji uključuje promjene staničnog ciklusa, DNA fragmentaciju, mutacije, permeabilizaciju mitohondrijske membrane i aktivaciju kaspaza. DNA fragmentacija, efekti staničnog ciklusa, mutageneza, mitohondrijska permeabilizacija i aktivacija kaspaza određeni su metodama fluorimetrijske spektroskopije i diferencijalnog ogledavanja. Prema podacima, rast A431 humanih epidermalnih stanica karcinoma je inhibiran s prosječnom IC₅₀ vrijednosti od 30 μM. U pogledu mehanizma djelovanja, ovi spojevi pokazuju interakciju s DNA uzrokujući fragmentaciju i zaustavljanje staničnog ciklusa u pod G₀/G₁ fazi. Uočena je visoka mutageneza za spoj **117** te umjerena za spoj **116**, dok je mitohondrijska permeabilizacija uočena sa spojem **117** i neznatno za spoj **116**. Oba spoja uzrokovala su aktivaciju kaspaza 3 i 7 sugerirajući put apoptoze unutrašnjim mehanizmom. Ova studija potvrdila je citotoksičnost novih molekula koje imaju strukturne i mehaničke sličnosti s poznatim prirodnim antitumorskim spojem elipticinom iz biljne porodice *Apocyanaceae* te su stoga efikasne u borbi protiv stanica raka, nisko su toksične u nekancerogenim stanicama i uzrokuju malo nuspojava.



Slika 11. Opća struktura triju benzazolo[3,2-a]kinolinskih soli

Tablica 2. Podatci za šest odabranih staničnih linija koje su tretirane spojevima **116**, **117** i **118** pri koncentraciji od 10 μM.

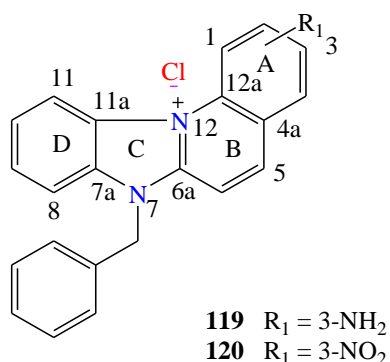
Panel	Stanična linija	% inhibicije		
		116	117	118
stanice karcinoma pluća	NCI-H5 22	93	>40	>40
karcinom debelog crijeva	KM 12	>40	>40	53
karcinom centralnog nervnog sustava	SF-268	>40	51	56
karcinom jajnika	OVCAR-3	>40	40	>40
	OVCAR-8	>40	60	>40
epidermalni karcinom	A431	40	5,5	N/A

Iz dobivenih podataka može se zaključiti da su novi analozi elipticina pokazali toksičnost od 40% do 93% na stanicama različitih tipova tkiva. Mehanizam djelovanja spojeva **116** i **117** proučen je A431 stanicama epidermalnog karcinoma te je zapažena citotoksičnost usporediva s strukturnim analogom elipticinom s preklapajućim mehanizmom djelovanja. Također, ovi spojevi stupaju u interakciju s DNA uzrokujući efekt mutageneze, uzrokuju arestiju staničnog ciklusa i depolarizaciju mitohondrijske membrane, aktiviraju kaspaze 3 i 7 te fragmentiraju DNA molekulu.

2014. godine O. Cox i suradnici¹³ objavili su sintezu i biološku aktivnost 7-benzil-3-aminobenzimidazo[3,2-a]kinolinij-klorida **119** i 7-benzil-3-nitrobenzimidazo[3,2-a]kinolinij-klorida **120**. Soli benzazolo[3,2-a]kinolina (BQS) su kationski kvarterni alkaloidi strukture slične onoj koju ima antitumorski agens elipticin. Dobiveni rezultati pokazuju da je spoj **119** s

elektron donorskom amino skupinom na položaju 3 u prstenu A izrazito učinkovit u sprječavanju rasta nekoliko različitih staničnih linija humanih karcinoma.

Tako je primjerice pronađeno >90 % inhibicije rasta kod KM12 staničnih linija raka debelog crijeva, U251 staničnih linija CNS karcinoma te SK-MEL-5 staničnih linija melanoma, dok je inhibicija rasta >70 % pronađena kod RPMI-8226 i SR staničnih linija leukemije, HOP-92 i NCL-H23 staničnih linija karcinoma pluća, COLO205 staničnih linija karcinoma debelog crijeva, SK-MEL-2 staničnih linija melanoma, OVCAR-4 staničnih linija karcinoma jajnika te SN12C staničnih linija karcinoma bubrega. Međutim, njegov analog, spoj **120** s elektron-akceptorskom dušikovom skupinom na istom položaju ima zanemariv utjecaj na stanične linije karcinoma. Razlike u njihovoj biološkoj aktivnosti proizlaze iz razlika u afinitetu prema elektronima, ali i iz njihove sposobnosti da formiraju vodikove veze kao i nekih fizikalnih svojstava koja određuju njihovu mogućnost interakcije sa staničnim komponentama. Iz navedenih razloga biološka aktivnost ovih spojeva uvelike ovisi o elektron-donorskim svojstvima supstituenata. BQS spojevi su karakteristični po planarnoj heterocikličkoj strukturi, kvarternom dušiku, benzotiazolskoj jezgri i amino ili nitro skupini na položaju 3 u prstenu A kao što prikazuje Slika 12.

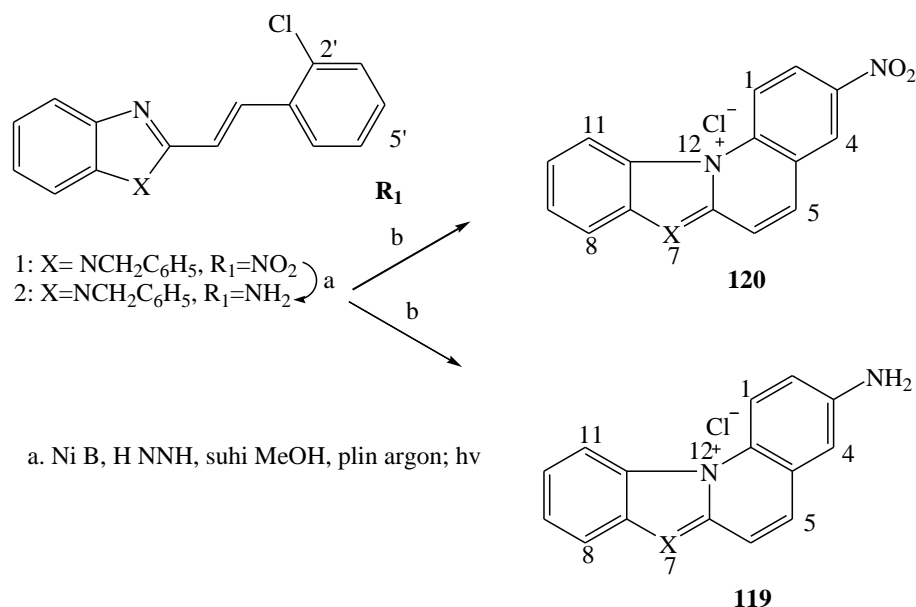


Slika 12. Opća struktura soli benzazolo[3,2-a]kinolinija (BQS)

Sinteza 3-nitro i 3-amino-7-benzilbenzimidazo[3,2-a]kinolinij-klorida (**120**) i (**119**) prikazana je na Shemi 10.

Prethodna istraživanja pokazuju da su mete ovim spojevima DNA molekula s kojom stvaraju adukte te enzimi topoizomeraze II. Biološka aktivnost kinolinskih spojeva na različitim vrstama tkiva razlikuje se ovisno o substituentima te je ovisna o elektron-donorskim svojstvima. Veća biološka aktivnost spoja **119** u odnosu na njegov analog **120** rezultat je

prisutnosti amino skupine u spoju **119** čime su osigurana dva donora vodikovih veza te s time omogućeno stvaranje jačih interakcija ovog spoja s enzimom.



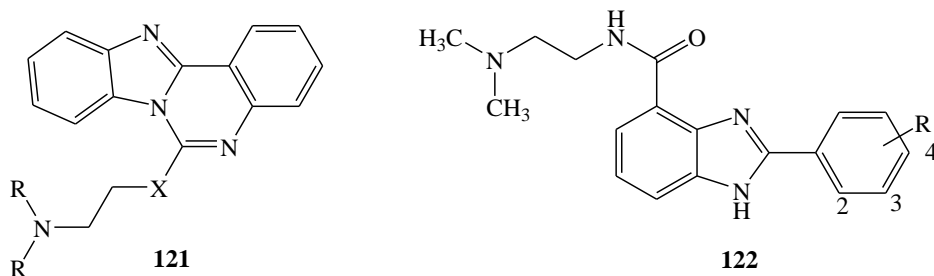
Shema 10.. Sinteza spoja **119** i njegovog nitro-supstituiranog analoga **120**

2.2.2. Ciklički derivati benzimidazola kao potencijalni antimikrobni agensi

Širenje bakterijske rezistencije na antibiotike u posljednjih nekoliko desetljeća dovelo je do nastanka multirezistentnih bakterija čime je liječenje standardnim metodama postalo nedjelotvorno. Bakterije su na Zemlji prisutne otprilike 3,5 milijardi godina zahvaljujući svojoj izuzetnoj prilagodljivosti na promjene i brzom razmnožavanju. Rezistentnost bakterija na odgovarajući lijek ili antibiotik može biti posljedica samog genoma bakterije u kojem su prisutni geni za rezistentnost. Ovo svojstvo bakterija zovemo urođenom otpornošću. Bakterije se odlikuju i stečenom otpornošću koja je pak posljedica evolucijske prilagodbe na nepovoljne uvjete u cilju održavanja vlastite vrste. Uz bakterije, vodeći globalni problem današnjice je sposobnost virusa da mutiraju u vrlo opasne oblike te jako brzo širenje virusnih bolesti. Cjepiva za novonastala oboljenja teško se pronalaze a nerijetko i prekasno. Tako je primjerice, prema WHO, epidemijom teškog akutnog respiratornog sindroma, engl. SARS (Severe acute respiratory syndrome) u razdoblju od 11.2002. do 07.2003. zaraženo 8447

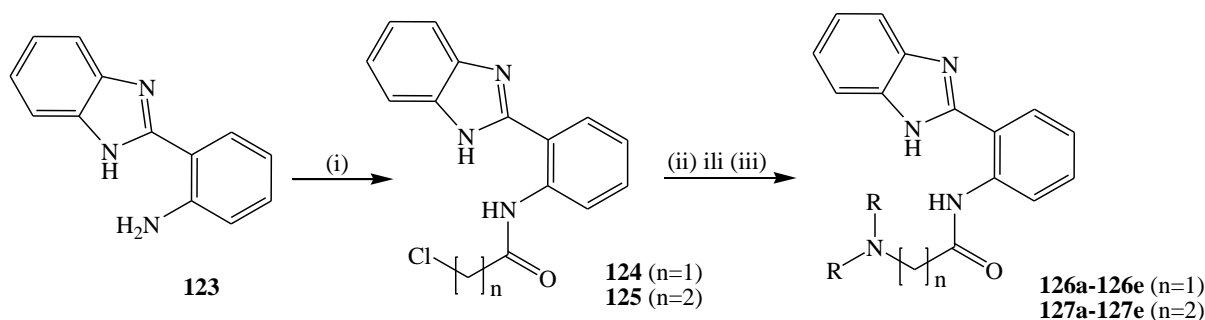
osoba od čega je 811 (9,6%) umrlo.¹⁴ Cjepivo protiv koronavirusa SARS pronađeno je tek na kraju epidemije. Osim toga, primjenom kemoterapeutskih agenasa, poput *ribavirina*, često se ne postiže efektivno djelovanje u redovnom terapijskom režimu, dok povećanje doze uzrokuje ozbiljne nuspojave. Iz navedenih razloga nužna je potreba za razvojem visoko efektivnih antiviralnih agenasa s nespecifičnom protekcijom budući da bi takvi agensi osigurali uspješnu profilaksu i terapiju za virusne bolesti bez preliminarne identifikacije uzročnika. Uz to, nespecifični agensi bi eliminirali dugačku proceduru pronalaska i odobravanja cjepiva. Prirodni faktor koji omogućuje nespecifičnu antiviralnu zaštitu je interferonski sustav. Interferoni su prirodni proteini iz skupine citokina koji se uspješno koriste u tretiranju bakterijskih, virusnih i onkoloških oboljenja. Međutim, primjenom egzogenih interferona mogu nastati alergijske reakcije, antiinterferonska antitijela poslije duže primjene kao i razne nuspojave pri korištenju većih doza pa je time njihova upotreba ograničena. Alternativni pristup obuhvaća poticanje sinteze endogenih interferona. U kliničkoj praksi u Ukrajini uspješno je uvedeno nekoliko interferonskih inducera kao što su amizon, arbidol, primavir (cikloferon) i amiksin (tiloron). Među njima, tiloron je pokazao visoku preventivnost i terapijsku učinkovitost prema širokom spektru infektivnih agenasa. Također je poznata mogućnost tilorona da interkalira između parova baza DNA molekule sa svojim planarnim tricikličkim fragmentom te je pretpostavljeno da je interkaliranje u DNA najvjerojatniji mehanizam indukcije interferona. Također je objavljeno da značajna interferon-inducirajuća svojstva posjeduju interkalirajući derivati fluorena, akridina, antrakina i fenantrolina. Stoga, potraga za interferonskim inducerima među nisko molekularnim policikličkim karbo i heteroaromatskim spojevima, sposobnim formiranju kompleksa s nukleinskim kiselinama putem interkaliranja je perspektivan smjer u područje antiviralne terapije.¹⁴

2009. godine E. A. Lyakhova i suradnici¹⁴ objavili su sintezu novih *N*-(benzimidazofenil) dialkilaminoalkilamida i 6-dialkilaminoalkilbenzimidazo[1,2-*c*]kinazolina kao potencijalnih interferonskih inducera i antiviralnih agenasa. Iz prethodnih istraživanja uočeno je da benzimidazo[1,2-*c*]kinazolin **121** stvara interkalacijski kompleks s DNA. Vrijednosti konstante asocijacije ovog spoja nisu objavljene ali je pronađena njihova niska citotoksičnost ($IC_{50} = 0,45\text{--}19,2 \mu\text{M}$) i umjerena akutna toksičnost *in vivo* ($LD_{50} = 300\text{--}500 \text{ mg/kg i.p.}$). Interes za derivate fenilbenzoimidazola **122** pojavio se zbog sličnosti spoja **122** sa spojem **121**. Strukture spojeva prikazane su na Slici 13.



Slika 13. Strukture spojeva **121** i **122**

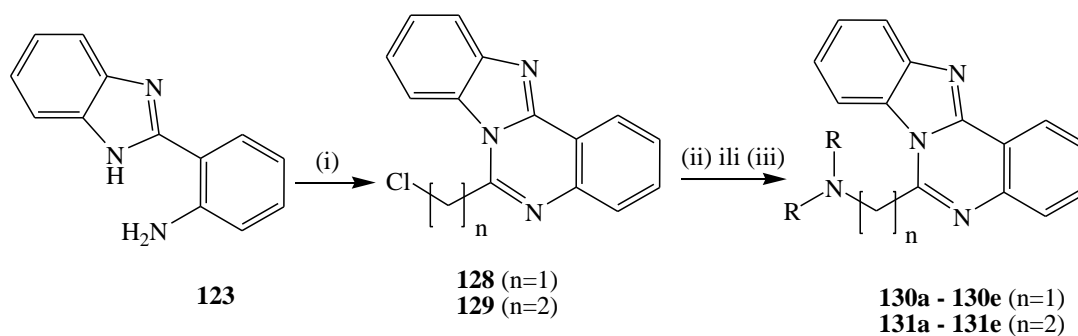
Više puta je objavljeno da se molekule u obliku srpa s jednim ili više benzimidazolskih podjedinica vežu na DNA molekulu sa strane manjeg utora. Međutim pronađeno je i da derivat fenilbenzimidazola **122** s kratkim kuglastim supstituentima ($R = \text{CH}_3, \text{Cl}, \text{Ph}$) također može interkalirati u dvostruku uzvojnici DNA ($1_g K_a = 5.04\text{--}6.43$) što je Lyakhova sa suradnicima dokazao koristeći etidijev bromid kao interkalirajući agens. U svom radu opisali su sintezu i afinitet *N*-(benzimidazofenil)dialkilaminoalkilamida i 6-dialkilaminoalkilbenzimidazo[1,2-*c*]kinazolina prema DNA te studiju korelacije strukture i biološke aktivnosti (SAR) ovih molekula. Kloroalkilamidni derivati **124** i **125** priređeni su reakcijom amina **123** s odgovarajućim kloroacilnim kloridima u ledenoj octenoj kiselini u prisustvu natrijevog acetata na sobnoj temperaturi kao što je prikazano na Shemi 11. Tretiranje spojeva **124** i **125** s odgovarajućim sekundarnim aminima rezultiralo je nastankom spojeva **126a–127e**. Za razliku od prvog koraka, metode priprave dialkilaminoalkilnih derivata **126a–127e** ovisile su o broju metilenskih jedinica u alifatskoj polovici molekule. Tretiranjem klorometilnog derivata **124** sa sekundarnim aminom u trostrukom suvišku u DMF-u nastali su spojevi **126a–126e** ($n=1$). Ova metoda nije bila prikladna za formiranje sličnih derivata **127a–127e** ($n=2$), te je početni alkilirajući agens regeneriran iz reakcijske smjese. Sinteza dialkilaminoetilnih derivata **127a–127e** provedena je refluksiranjem spoja **125** s trostrukim do četverostrukim suviškom sekundarnog amina u etanolu kao što je prikazano na Shemi 11.



Shema 11. i) $\text{Cl}(\text{CH}_2)_n\text{COCl}$, AcOH , AcONa , *r.t.*; ii) HNR_2 , DMF , *r.t.*, 24 h ($n = 1$);
iii) HNR_2 , EtOH , *refl.*, 2 h ($n = 2$).

Na Shemi 12 prikazana je sinteza 6-kloroalkilbenzoimidazo[1,2-*c*]kinazolina **128** i **129** acilacijom spoja **123** s kloroacilkloridima u ledenoj octenoj kiselini pri 60°C kao što je opisano ranije. Komponenta **128** tretirana je različitim sekundarnim aminima u DMF-u na sobnoj temperaturi 24 h kako bi se priredili benzoimidazo[1,2-*c*]kinazolini **130a–130e** kao što prikazuje Shema 12. Ova metoda je bila neuspješna pri sintezi spojeva **131a–131e** (*n*=2).

S druge strane, u pokušaju sinteze spoja **131a** refluksom spoja **129** sa suviškom piperidina u etanolu, dobivena je značajna količina spojeva **125** i **127a** ali je i željeni produkt **131a** bio prisutan u reakcijskoj smjesi. Slični rezultati dobiveni su i pri transformaciji spoja **129** u **131b–131e**. Uočeno je da refluksiranjem klorida **129** s trostrukim do četverostrukim suviškom odgovarajućeg sekundarnog amina u metanolu nastaju dialkilaminoetilbenzimidazo[1,2-*c*]kinazolini **131a–131e** u visokom iskorištenju. Brzina ove kemijske reakcije ovisi o vrsti prirode sekundarnog amina.



Shema 12. i) $\text{Cl}(\text{CH}_2)_n\text{COCl}$, AcOH , 60 °C; ii) HNR_2 , DMF , *r.t.*, 24 h (*n* = 1);
iii) HNR_2 , MeOH , *refl.* (*n* = 2).

Kao što je ranije navedeno afinitet sintetiziranih spojeva prema DNA molekuli određen je testom pomaka etidijevog bromida a rezultati ispitivanja prikazani su u Tablici 3.

Tablica 3. $I_g K_a$ vrijednosti sintetiziranih komponenti

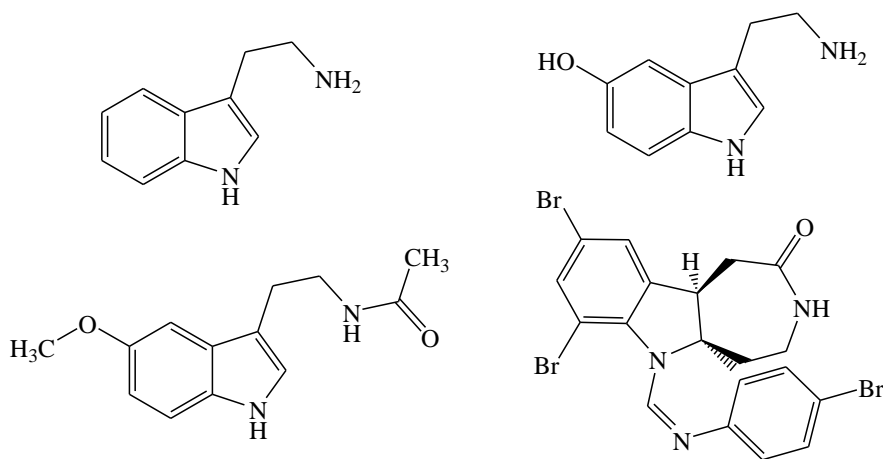
Spoj	$I_g C_{50}$	$I_g K_a$	Spoj	$I_g C_{50}$	$I_g K_a$
126a	-2,65	4,75	130a	-3,84	5,94
126b	-2,66	4,76	130b	-3,65	5,75
126c	-2,84	4,94	130c	-3,83	5,93
126d	-2,58	4,68	130d	-3,44	5,54
126e	-2,32	4,42	130e	-3,72	5,82
127a	-2,80	4,90	131a	-4,03	6,13
127b	-2,66	4,76	131b	-4,17	6,27
127c	-2,83	4,93	131c	-4,23	6,33
127d	-2,92	5,02	131d	-4,12	6,22
127e	-2,86	4,96	131e	-4,18	6,28
			Tiloron	-4,20	6,30

Asocijacijske konstante rezultirajućih spojeva ovise o broju metilenskih jedinica u alkilnoj poveznici ali i o samoj prirodi interkalirajućeg fragmenta. Spojevi mogu biti podjeljeni u četiri skupine s rastućom interkalacijskom sposobnošću kako slijedi: **126a–126e** ($n=1$) < **127a–127e** ($n=2$) << **130a–130e** ($n=1$) < **131a–131e** ($n=2$). Dobivene $I_g K_a$ vrijednosti za ligande **126a–131e** su specifične za monointerkalatore 4,42–6,33 što je vidljivo u Tablici 3. Postoji značajna razlika u vrijednostima konstanti za fenilbenzoimidazole ($I_g K_a = 4,42–5,02$) i benzoimidazo[1,2-*c*]kinazolinske ($I_g K_a = 5,54–6,33$). Naposljetku, $I_g K_a$ vrijednosti spojeva **130a–131e** s tetracikličkim benzoimidazo[1,2-*c*]kinazolinskim fragmentom su više za otprilike jedan red veličine od odgovarajućih acikličkih derivata fenilbenzoimidazola **126a–127e**. S jedne strane, ove razlike se poklapaju s konceptom o minimalnim interkalatorima na temelju veličine planarne površine. Prema ovome, planarni dio spojeva **130a–131e** je zaista veći od planarnog dijela spojeva **126a–127e**. Nadalje, u slučaju realizacije planarne konfiguracije spojeva **126a–127e**, ovi spojevi imaju i veći broj 'teških atoma' (C, N, O) koplano s benzoimidazolskim prstenom u usporedbi s tetracikličkim spojevima **130a–131e**. S druge strane, mogućnost rotacije oko jednostruke Ph-BIm veze u 2-fenilbenzoimidazolu omogućuje realizaciju seta neplanarnih konformacija koje se nemogu interkalirati u DNA molukulu, dok je planarna konformacija moguća jedino u interkaliranom kompleksu. Za daljnje objašnjenje dobivenih razlika u afinitetu 2-fenilbenzoimidazola i benzoimidazo-kinazolinske prema DNA potrebna su dodatna ispitivanja.

Iste godine R. Rohini i suradnici¹⁵ proveli su sintezu i karakterizaciju serije 2-*o*-arilidineaminofenilindola i njihovih cikličkih derivata indolo[1,2-*c*]kinazolina. Svim priređenim produktima ispitana je *in vitro* antibakterijska aktivnost protiv tri Gram pozitivne i tri Gram negativne bakterije te im je također ispitana inhibitorska aktivnost protiv tri soja gljivica. Spoj **140c** pokazao je potencijalnu aktivnost protiv svih bakterijskih (osim *S. Typhimurium*) i gljivičnih sojeva. Posebice, spojevi **140i** i **140j** s izokinolinskim i piridinskim substituentima pokazuju potencijalnu antibakterijsku kao i antifungalnu aktivnost u usporedbi sa standardnim lijekovima *Ampicilinom* i *Ketokonazolom*.

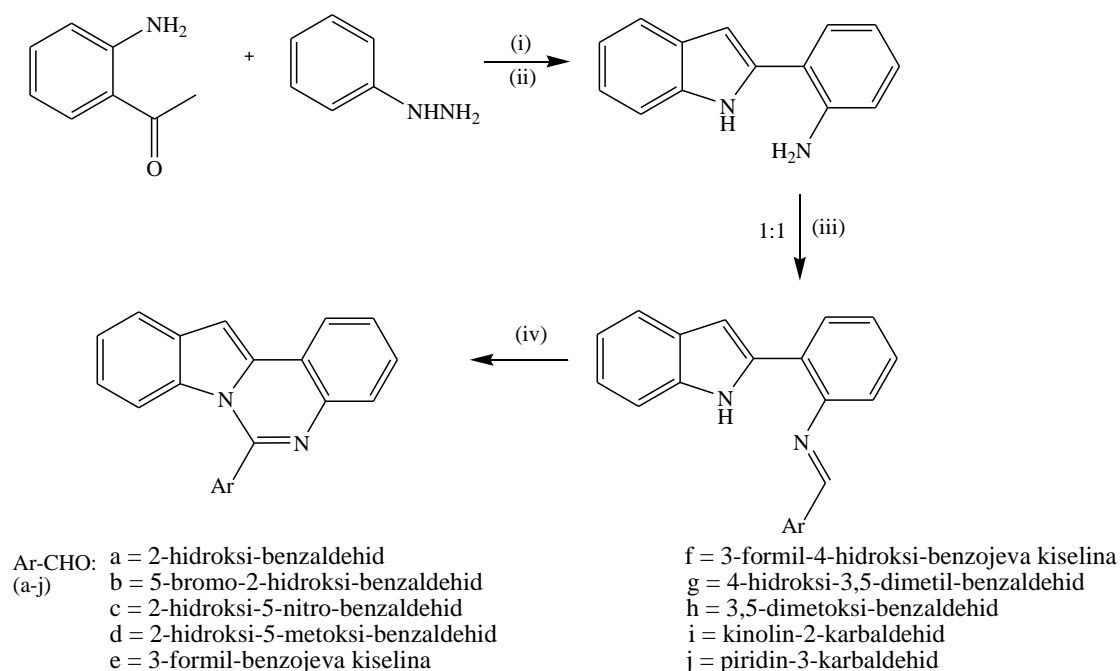
Posljednjih nekoliko godina derivati indola privlače izuzetnu pažnju kao izvor novih i korisnih farmaceutskih i biološki aktivnih komponenti te su jedna od najintezivnije proučavane klase heterocikličkih spojeva. Indolska jezgra je osnovni gradivni element velikog broja prirodnih i sintetskih produkata s biološkom aktivnošću. Tako je primjerice, osnovni kostur u spojevima **132** (Tryptamin), **134** (Melatonin), **135** (Hinckdentine A) i **133** (neurotransmitter Serotonin) upravo indolska jezgra što je vidljivo na Slici 14.

Zapravo, derivati indola imaju veoma važnu ulogu u kemiji, industriji i medicini. Poznato je, da se različito substituirani derivati indola povezuju sa širokim spektrom bioloških aktivnosti kao što su antitumorska, antiepileptička, antimikrobna, antimalarijska, protuupalna te anti HIV-na svojstva.



Slika 14. Prirodni alkaloidi indola

Zbog važnosti ovih molekula, Rohini i suradnici, sintetizirali su nove kondenzirane derivate indola, strukturno srodnih s kopnenim ili morskim alkaloidima (npr. hinckdentine A za indolo[1,2-*c*]kinazolinski prsten, u cilju pronalaska molekula s još boljom biološkom aktivnosti. Opći put sinteze željenih kondenziranih kinazolina **140a–140j** razvijen je kao što je prikazano na Shemi 13.



Shema 13. Put sinteze 6-supstituiranih indolo[1,2-*c*]kinazolina

Ključni indolski derivat 2-*o*-aminofenilindol **138** dobiven je Fisherovom ciklizacijom fenilhidrazona **137** s 2-aminoacetofenonom **136**. Reakcijom kondenzacije spoja **138** s odgovarajućim aromatskim aldehidom (u omjeru 1:1) u etanolu, dobiveni su odgovarajući 2-*o*-arilidinaminofenil indoli **139a–139j** koji su oksidativnom ciklizacijom s praškastim KMnO₄ u acetonu doveli do nastanka željenih 6-substituiranih indolo[1,2-*c*]kinazolinskih derivata. Svim pripremljenim kondenziranim kinazolinima ispitana je antibakterijska aktivnost protiv Gram pozitivnih, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes* i Gram negativnih bakterijskih sojeva, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* te *Klebsiella pneumonia*. Ampicilin je korišten kao standard. Osim antibakterijske, dobivenim spojevima ispitana je i antifungalna aktivnost protiv sojeva *Aspergillus niger*, *Candida albicans* i *Trichoderma viridae*. Za usporedbu antifungalnih rezultata kao standardni lijek korišten je *Ketokonazol*. Preliminarno ispitivanje deset kinazolina provedeno je pri fiksnoj koncentraciji od 1000 µg/ml. Rezultati istraživanja prikazani su u Tablici 4.

Tablica 4. Područje inhibicije novo sintetiziranih 6-arilindol[1,2-c]kinazolina **140a–j** protiv različitih bakterija i gljiva

Spoj (1000 μg/ml)	područje inhibicije								
	Gram pozitivne bakterije			Gram negativne bakterije			Gljivice		
	<i>S. Aureus</i>	<i>B. Subtilis</i>	<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. Coli</i>	<i>K. Pneumonia</i>	<i>A. Niger</i>	<i>C. Albicans</i>	<i>T. Viridae</i>
140a	22	19	13	16	18	16	22	16	9
140b	21	20	16	14	20	18	19	15	13
140c	52	41	40	42	45	50	50	46	48
140d	20	15	18	13	21	15	16	12	14
140e	19	18	14	16	18	12	15	10	9
140f	20	16	15	12	20	15	16	12	13
140g	15	19	18	15	19	18	18	12	9
140h	14	12	10	13	9	13	10	9	14
140i	55	48	51	51	50	55	52	48	51
140j	51	50	48	46	51	22	51	50	48
standard	48 ¹	39 ¹	35 ¹	45 ¹	40 ¹	45 ¹	45 ²	40 ²	41 ²

¹ Ampicilin

² Ketokonazol

Antimikrobiološko ispitivanje otkrilo je da svi testirani spojevi **140a–140j** pokazuju umjerenu do dobru inhibiciju prema svim bakterijskim i fungalnim sojevima. Maksimalna inhibicija svih testiranih organizama osim *S. typhimurium* postignuta je sa spojem **140c** (MIC= 2,5–20μg/ml). Naposljetku, najveću potencijalnu aktivnost protiv svih bakterijskih i fungalnih sojeva ali i standarda ampicilina i ketokonazola, pokazala su dva kondenzirana kinazolina **140i** i **140j** (MIC= 2,5–20μg/ml). Kao moguće objašnjenje ovih rezultata autori su naveli da antibakterijska i antifungalna aktivnost ovih spojeva može poticati od osnovnog skeletona ovih molekula kao i iz prirode substituenata kao što su izokinolil, piridil i nitro skupine. Minimalne inhibitorske koncentracije spojeva **140c**, **140i** i **140j** protiv različitih bakterijskih i gljivičnih sojeva, određene su postupkom razrjeđenja tekućine. U Tablici 5 dane su MIC vrijednosti pri kojima je zaustavljen rast mikroorganizama.

Tablica 5. MIC vrijednosti potencijalnih 6-arilindol[1,2-*c*]kinazolina 140c, 140i, 140j i standardnih lijekova

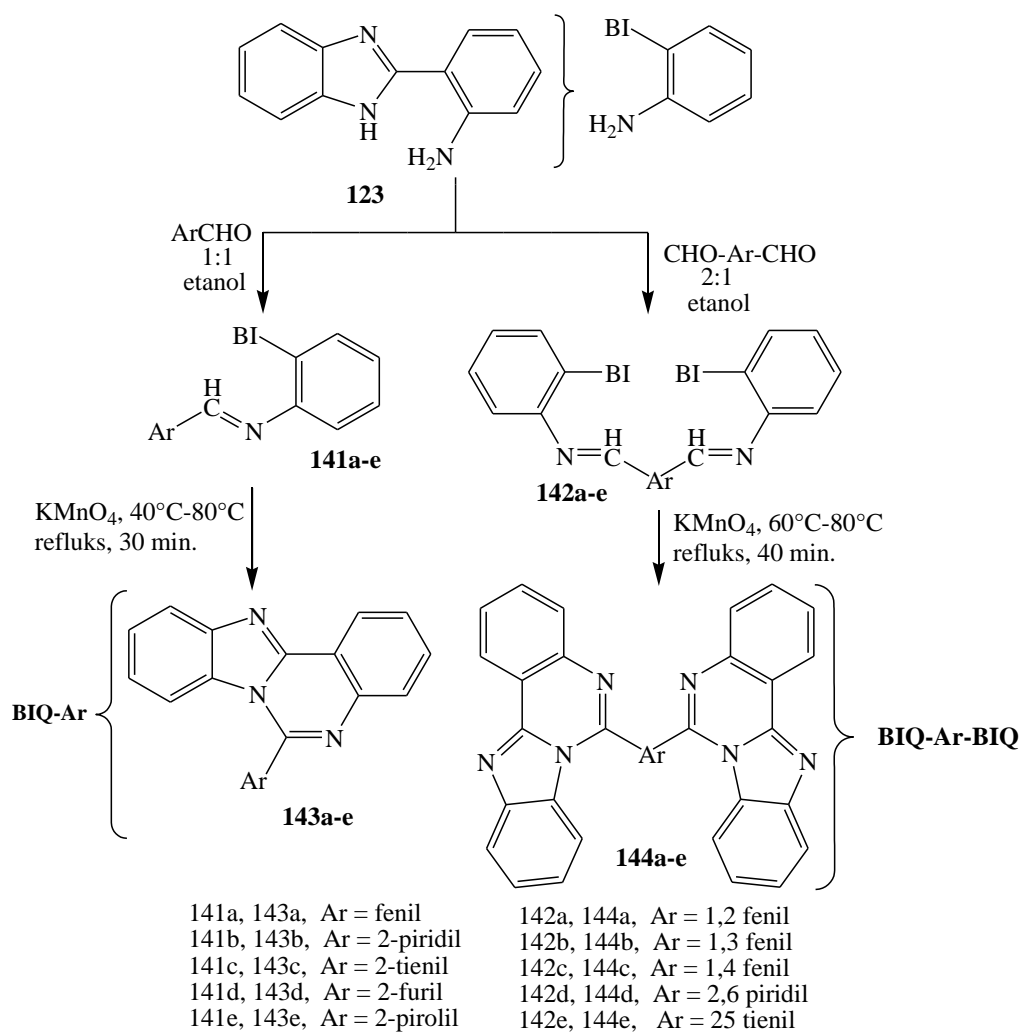
Spoj (2,5-50 µg/ml)	područje koncentracije (µg/ml)								
	Gram pozitivne bakterije			Gram negativne bakterije			Gljivice		
	<i>S. Aureus</i>	<i>B. Subtilis</i>	<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. Coli</i>	<i>K. Pneumonia</i>	<i>A. Niger</i>	<i>C. Albicans</i>	<i>T. Viridae</i>
140c	5	10	20	15	10	5	10	15	15
140i	2,5	5	10	2,5	5	2,5	5	5	10
140j	2,5	10	5	5	10	5	10	2,5	5
standard	10 ¹	20 ¹	25 ¹	10 ¹	15 ¹	10 ¹	15 ²	25 ²	20 ²

¹Ampicilin

²Ketokonazol

U isto vrijeme ista skupina autora provela je sintezu i karakterizaciju serije mono, bis-2-*o*-arilidenaminofenilbenzimidazola **141a–141e** i **142a–142e** i drugu seriju odgovarajućih mono, bis-6-arilbenzimidazo[1,2-*c*]kinazolina **143a–143e** i **144a–144e**. Traženi benzimidazo[1,2-*c*]kinazolini priređeni su kondenzacijom 2-(*o*-aminofenil)benzimidazola s mono- i di-karbonilnim komponentama, nakon čega je provedena oksidativna ciklizacija rezultirajućih mono i bis 2-*o*-arilidenaminofenilbenzimidazola. Ispitana je antimikrobna aktivnost svih kinazolina protiv raznovrsnih bakterijskih i gljivičnih sojeva. Na shemi 14 prikazan je reakcijski put sinteze željenih produkata **143a–143e** te **144a–144e**. Početna sinteza 2-*o*-arilidenaminofenilbenzimidazola **141a–141e** te **142a–142e** provedena je kondenzacijom 2-(*o*-aminofenil)benzimidazola **123** i različitih mono- (Ar-CHO) i di-karbonilnih spojeva (CHO-Ar-CHO). Konačni mono- i bis-6-arilbenzimidazo[1,2-*c*]kinazolini sintetizirani su oksidativnom ciklizacijom odgovarajućih 2-*o*-arilidenaminofenilbenzimidazola.

U sklopu ovog istraživanja provedeno je ispitivanje biološke aktivnosti pripremljenih kinazolina, i to protiv *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes* Gram pozitivnih i *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* Gram negativnih bakterijskih sojeva. Kao standard za usporedbu rezultata korišten je Ampicilin a rezultati ispitivanja dani su u Tablici 6.



Shema 14. Put sinteze mono, bis-benzimidazo[1,2-c]kinazolina

Tablica 6. Područje inhibicije novo sintetiziranih mono, bis-benzimidazo[1,2-c]kinazolina protiv različitih bakterija i gljiva

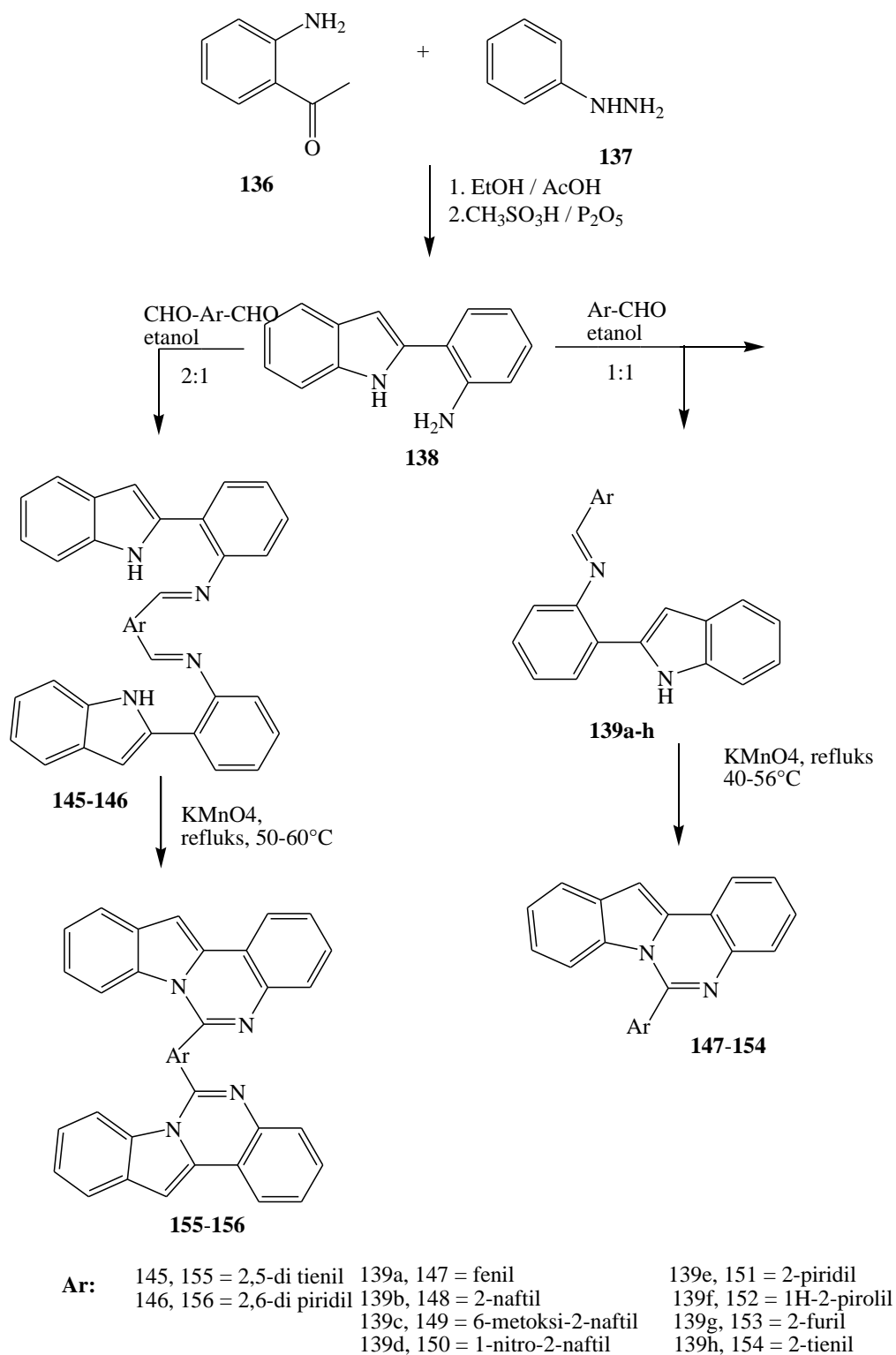
Spoj (1000 µg/ml)	područje inhibicije								
	Gram pozitivne bakterije			Gram negativne bakterije			Gljivice		
	<i>S. Aureus</i>	<i>B. Subtilis</i>	<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. Coli</i>	<i>K. Pneumonia</i>	<i>A. Niger</i>	<i>C. Albicans</i>	<i>T. Viridae</i>
143a	18	14	13	12	18	16	10	10	9
143b	50	42	49	38	51	35	49	48	45
143c	51	45	50	40	50	36	51	48	46
143d	25	21	18	15	20	12	13	11	6
143e	22	18	13	14	18	12	11	9	9
144a	18	14	15	12	20	15	16	13	13
144b	21	18	15	15	19	18	18	15	12
144c	25	19	18	14	21	18	21	16	13
144d	52	45	50	46	50	49	50	50	45
144e	55	50	52	46	51	50	55	51	48
Standard	48	39	35	45	40	45	45	40	41

¹Ampicilin

²Ketokonol

Antibakterijsko ispitivanje otkrilo je da svi testirani spojevi **143a–e** i **144a–e** pokazuju umjerenu do dobru inhibiciju svih bakterijskih sojeva. Od deset ispitanih, spojevi **143b** i **143c** te **144d** i **144e** pokazali su se kao vrlo efektivni na temelju vrijednosti relativne zone inhibicije. Maksimalna inhibicija uočena je za spojeve **143b** i **143c** protiv svih testiranih organizama osim *S. typhimurium* i *K. pneumonia*. Dodatno, najpotentnija aktivnost uočena je kod bis-benzimidazo[1,2-*c*]kinazolina **144d** i **144e** protiv svih bakterijskih sojeva u usporedbi sa standardnim lijekom *Ampicilinom*. Gore navedenim kinazolinima ispitana je i antifungalna aktivnost protiv *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Trichoderma viridae* pri čemu je Ketokonazol korišten kao standard. Rezultati pokazuju umjerenu do dobru aktivnost kod svih sintetiziranih spojeva **143a–e** i **144a–e**. Piridil- i tienil-supstituirani kinazolini **143b** i **143c** te **144d** i **144e** pokazuju isti trend u slučaju gljivičnih sojeva (Tablica 6). Iz rezultata se može zaključiti da među svim sintetiziranim spojevima, oni koji su piridil- i tienil-supstituirani na C₆ položaju benzimidazo[1,2-*c*]kinazolina pokazuju bolju aktivnost protiv testiranih bakterija i gljiva od onih spojeva koji sadrže druge aromatske substituent. Posebice, spojevi s dvije kinazolinske jedinice, **144d** i **144e**, pokazuju veću aktivnost od mono-benzimidazo[1,2-*c*]kinazolina. Moguće objašnjenje ovog rezultata bila bi ovisnost antifungalne i antibakterijske aktivnosti spojeva o osnovnom kosturu molekule kao i o prirodi substituenta.

2010. godine R. Rohini i suradnici¹⁶ sintetizirali su te potom ispitali biološku aktivnost nekolicini novih mono, bis-indolo[1,2-*c*]kinazolina. Sinteza navedenih spojeva provedena je iz 2-(2-aminofenil)indola i različitih arilnih aldehida. Svim derivatima ispitana je antibakterijska (*S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenes*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *K. pneumonia*) i antifungalna (*A. niger*, *C. albicans*, *T. viridae*) aktivnost. Posebnu pažnju izazvalo je uvođenje dodatnog substituenta na indolsku jezgru budući da bi takve promjene mogle utjecati na interakciju molekula s biološkim metama. Kao što je prikazano na Shemi 15 sinteza mono- i bis-indolo[1,2-*c*]kinazolina provedena je u tri koraka, koristeći 2-(2-aminofenil)indol **138** kao ključni prekursor. Kondenzacijom 2-(2-aminofenil)indola **138** s različitim aromatskim aldehydima (Ar-CHO, CHO-Ar-CHO) dobiveni su mono- i bis-2-(2-arilidenaminofenil)indoli iz kojih se, tretiranjem s praškastim KMnO₄ u acetonu, dobivaju mono- i bis-indolo[1,2-*c*]kinazolini. Svi novo sintetizirani kinazolini podvrgnuti su ispitivanju *in vitro* antimikrobiološke aktivnosti protiv *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenes* (Gram pozitivnih), *S. typhimurium*, *E. coli*, *K. pneumonia* (Gram negativnih) bakterijskih sojeva i *A. niger*, *C. albicans* i *T. viridae* gljivičnih sojeva. *Ampicilin* i *Ketokonazol* su korišteni kao standardni lijekovi.



Shema 15. Sinteza 6-arilindol[1,2-c]kinazolina **147–156**

Rezultati ispitivanja prikazani su u Tablici 7. Antimikrobno ispitivanje pokazalo je da spojevi s heterocikličkom jedinicom na položaju C₆, **151–156**, pokazuju visoku aktivnost protiv svih bakterijskih i fungalnih sojeva.

Posebno, spojevi koji sadrže dvije kinazolinske jedinice u svojim strukturama, bis-indolo[1,2-c]kinazolini **155** i **156** pokazuju izuzetnu aktivnost protiv svih testiranih sojeva. Minimalna inhibitorska koncentracija potencijalnih spojeva **151–156** protiv svih bakterijskih i gljivičnih sojeva određena je metodom razrjeđenja otopine. Usporedba MIC (µg/ml) vrijednosti potencijalnih spojeva i standardnih lijekova protiv testiranih sojeva dana je na Slici 15.

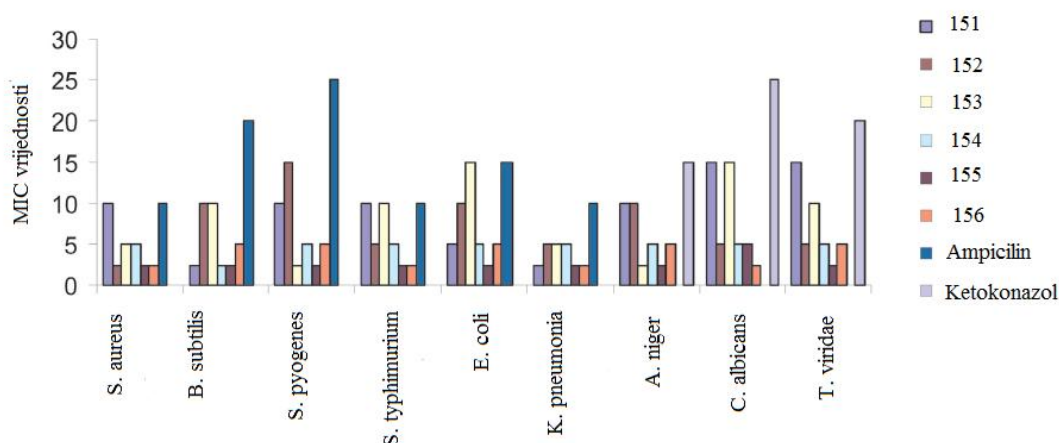
Tablica 7. Područje inhibicije novo sintetiziranih 6-arilindol[1,2-c]kinazolina protiv različitih bakterija i gljivica

Spoj (1000 µg/ml)	područje inhibicije								
	Gram pozitivne bakterije			Gram negativne bakterije			Gljivice		
	<i>S. Aureus</i>	<i>B. Subtilis</i>	<i>S. Pyogenes</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. Coli</i>	<i>K. Pneumonia</i>	<i>A. Niger</i>	<i>C. Albicans</i>	<i>T. Viridae</i>
147	21	15	18	12	20	18	21	20	18
148	21	15	18	12	20	18	21	20	18
149	9	20	21	21	12	21	18	16	12
150	12	16	13	19	19	19	14	21	11
151	48	50	48	49	51	50	46	48	45
152	51	49	46	50	48	49	49	50	50
153	49	46	50	46	45	50	50	49	46
154	50	51	49	51	50	50	48	50	49
155	52	52	51	55	52	51	52	51	55
156	55	48	50	52	51	49	50	52	51
Standard	48 ¹	39 ¹	35 ¹	45 ¹	40 ¹	45 ¹	45 ²	40 ²	41 ²

¹Ampicilin

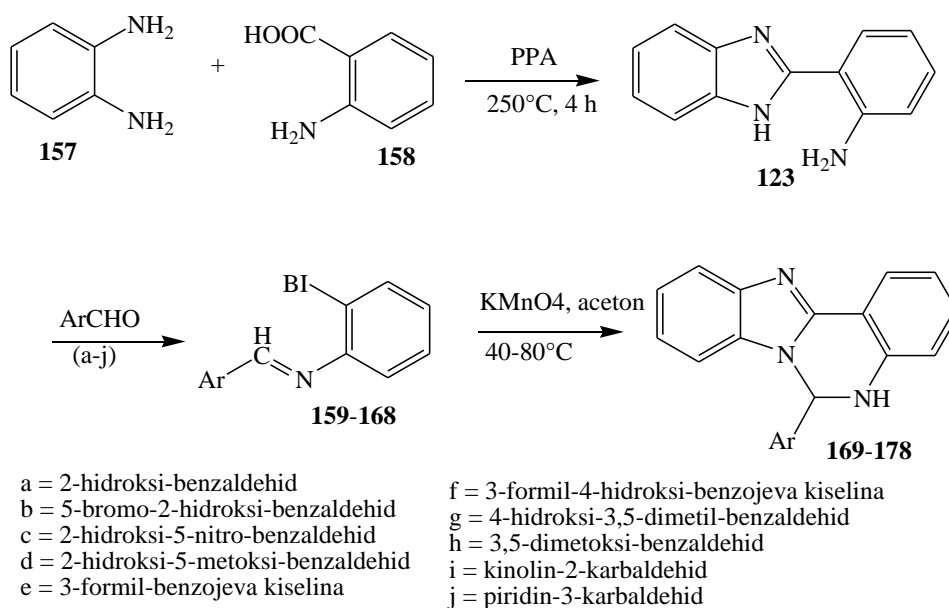
²Ketokonol

Potvrđeno je da spojevi **151–154** pokazuju najveću aktivnost protiv svih bakterijskih i gljivičnih sojeva s MIC vrijednošću u području 2,5–15 µg/ml. Nadalje, bis-indolo[1,2-c]kinazolini pokazuju potentniju inhibitorsku aktivnost (MIC = 2,5–5 µg/ml), protiv svih bakterija i gljivica, čak i od standarda *Ampicilina* i *Ketokonazola*.



Slika 15. Usporedba MIC vrijednosti ($\mu\text{g/ml}$) kinazolina i standarda protiv različitih bakterija i gljiva

Iste godine skupina autora na čelu s R. Rohini¹⁷ pripremila je seriju 6-arilbenzimidazo[1,2-*c*]kinazolina **169–178** kondenzacijom 2-(*o*-aminofenil)benzimidazola s različitim arilnim aldehydima, nakon čega je slijedila oksidativna ciklizacija 2-*o*-arilidenaminofenilbenzimidazola **159–168** prema Shemi 16. Nakon sinteze, skupina autora ispitala je antimikrobna svojstva svih 6-arilbenzimidazo[1,2-*c*]kinazolina protiv tri Gram pozitivne (*S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenes*) i tri Gram negativne (*S. typhimurium*, *E. coli*, *K. pneumonia*) bakterijske vrste te tri soja gljivica (*A. niger*, *C. albicans*, *T. viridae*).



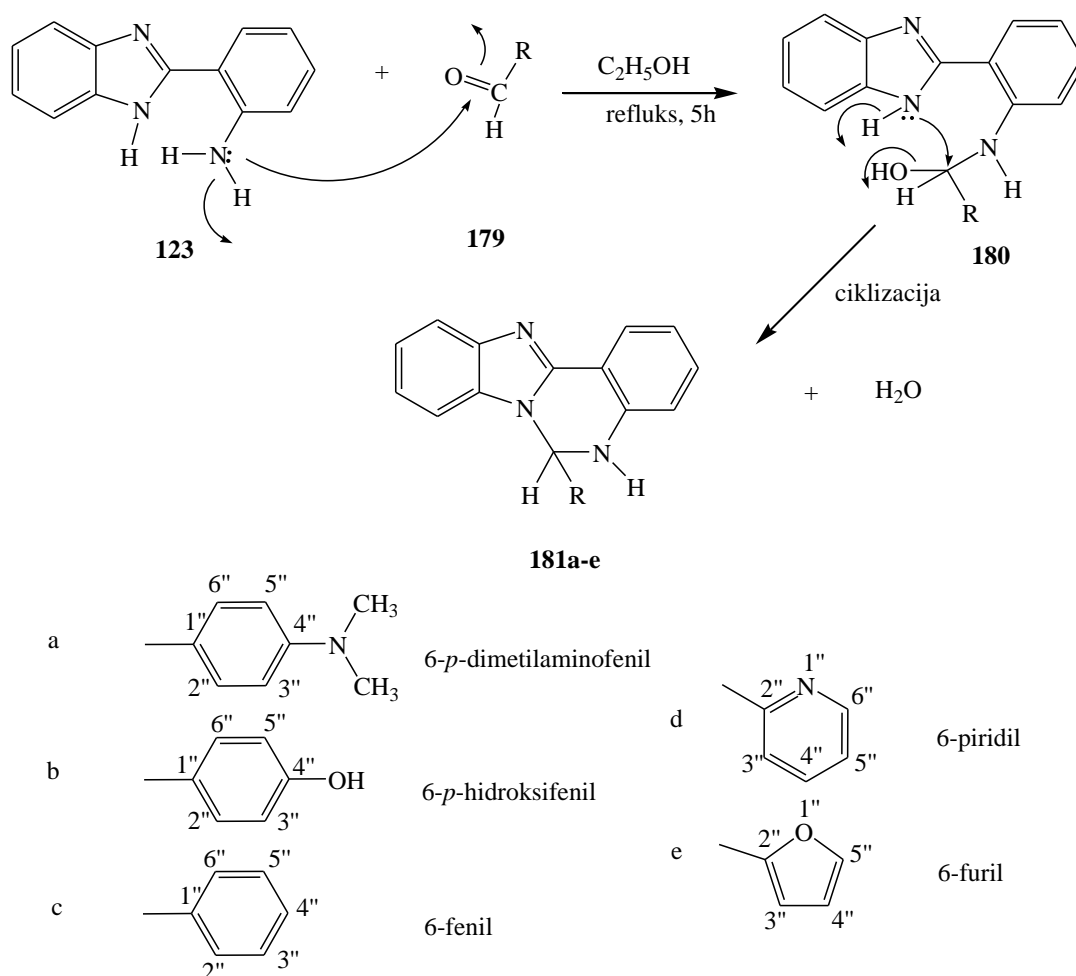
Shema 16. Sinteza 6-arilbenzimidazo[1,2-*c*]kinazolina **169–178**

Rezultati bioloških ispitivanja pokazali su da svi ispitani spojevi imaju umjerenu do dobru antimikrobnu aktivnost. Među njima, spoj **171** (MIC = 5–20 µg/ml) pokazuje dobru aktivnost protiv svih bakterija i gljivica. Najpotentnija aktivnost pronađena je za spojeve **177** i **178** (MIC=2,5–15 µg/ml) prema svim testiranim gljivičnim i bakterijskim sojevima. Najpotentnija aktivnost kod spojeva **171**, **177** i **178** moguća je zbog prisutnosti heterocikličkog izokinolinskih, piridinskih te nitro substituiranih arilnih skupina na položaju C₆ benzimidazo[1,2-*c*]kinazolina.

Dvije godine kasnije S. G. Bubbly i suradnici¹⁸ proveli su sintezu i karakterizaciju 6-*p*-dimetilaminofenil-5,6-[1,2-*c*]kinazolina **181a** te ispitali njegovu biološku aktivnost. Navedeni spoj pripravljen je reakcijom *o*-aminofenilbenzimidazola **123** s *p*-dimetilamino-benzaldehidom **179**. Uz spoj **181a**, biološka aktivnost ispitana je i nekolicini srodnih kinazolina, 6-*p*-hidroksifenil-5,6-dihidrobenzimidazo[1,2-*c*]kinazolinu **181b**, 6-fenil-5,6-dihidrobenzimidazo[1,2-*c*]kinazolinu **181c**, 6-piridil-5,6-dihidrobenzimidazo[1,2-*c*]kinazolinu **181d** te 6-furil-5,6-dihidrobenzimidazo[1,2-*c*]kinazolinu **181e**. Zbog svog širokog spektra bioloških aktivnosti kinazolini zauzimaju značajno mjesto u području medicinske kemije te su poznati citotoksični agensi. Substituirani kinazolini pokazuju fungicidna, antimikrobna, protuupalna, diuretska, antikancerogena, anti-analgetska, antitumorska, anti-HIV svojstva te CNS (Central nervous system) stimulirajuća svojstva. Neki derivati indolo[1,2-*c*]kinazolina pokazuju kataleptičnu aktivnost. Imidazoli i njihovi derivati koriste se kao vezivne grupe u prijenosu metalnih iona. Multidentatni *N*-heterocikli pri koordinaciji do metalnih iona proizvode organizirane supramolekule te se smatraju obećavajućima za dizajn stabilnih uređaja za svjetlosnu pretvorbu. Također je dobro poznata primjena imidazola u medicinskoj kemiji te kemiji prirodnih produkata/alkaloida. Heterocikli s imidazolskom jedinicom su od značajne biološke važnosti i pokazuju antibakterijska i antigljivična svojstva, antagonistička svojstva leukotrien B₄ receptora, te se ponašaju kao otvarači kalijevog kanala. Benzimidazoli i njihovi derivati, kao i njihovi metalni kompleksi pokazuju antibakterijska, antigljivična, antihelmintička, insekticidna i virucidna svojstva. Zbog navedenih razloga vjerojatno bi uvođenjem benzimidazolne skupine u kinazolinski sustav došlo do primjetnog utjecaja na biološku aktivnost kinazolina. Iz literaturnih podataka, poznato je da benzimidazo-kinazolini pokazuju virucidna svojstva i antifungalni efekt protiv dermatofita. U svom radu grupa autora sintetizirala je benzimidazo[1,2-*c*]kinazoline sa 6-alkil substituentima kako bi ispitala njihovu bronhodilatatorsku aktivnost. Biološka aktivnost 6-fenil-5,6-dihidrobenzimidazo[1,2-*c*]kinazolina je ovisna o njegovoj strukturi te donorsko/akceptorskim svojstvima

substituenata. Uvođenjem elektron akceptorskih skupina poput Cl, Br, F i NO₂ na položaj 6 fenilnog prstena, došlo bi do gubitaka antigljivične aktivnosti dobivenih spojeva. Naprotiv, elektron donorski substituent poput OCH₃ skupine poboljšava aktivnost spojeva za gotovo pet puta u *T. mentagrophytes*, *E. floccosum* and *T. Rubrum*. Detaljne analize strukture spoja osigurale bi mogućnost razumijevanja njegovog biološkog djelovanja te bi se mogao odrediti način vezivanja receptora za razgranatu strukturu spoja. Reakcijski mehanizam *o*-aminofenilbenzimidazola **123** s *p*-dimetilaminobenzaldehidom **179** u etanolu u cilju proizvodnje 6-*p*-dimetilaminofenil-5,6-dihidrobzenoimidazo[1,2-*c*]kinazolina **181a** prikazan je na Shemi 17. Analiza rezultata antimikrobne aktivnosti spojeva **181a**, **181b** i **181c** pokazala je da spojevi **181a** i **181b** imaju veću aktivnost protiv *Kvašćevih* gljivica u usporedbi sa standardom, dok su za *Bacillus subtilis* neaktivni. Supstituenti u *para* položaju (dimetilamino skupina u **181a**, hidroksi skupina u **181b**), su elektron-donirajući te ne pokazuju nikakvu inhibiciju rasta bakterija. Međutim, ovi spojevi pokazuju primjetnu inhibiciju *Kvašćevih* gljivica u usporedbi sa standardima.

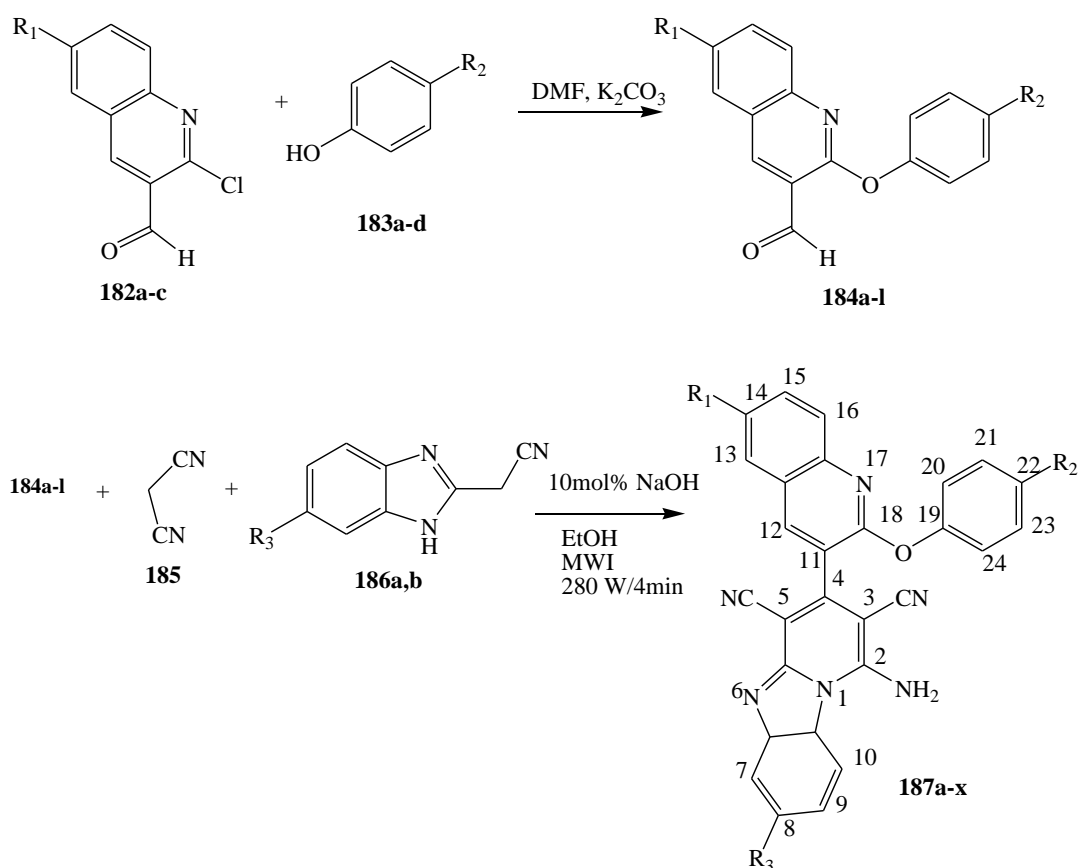
Supstituent u spoju **181c** (fenil) s vodikom u *para* položaju pokazuje umjerenu antimikrobnu aktivnost za oba organizma u usporedbi sa spojevima **181a** i **181b**.



Shema 17. Reakcijski mahanizam *o*-aminofenilbenzimidazola sa substituiranim benzaldehidom

Iste godine C. B. Sangani i suradnici¹⁹ objavili su sintezu nove serije pirido[1,2-*a*]benzimidazolnih derivata β -ariloksikinolina **187a–x** sintetiziranu pomoću bazno katalizirane, mikrovalovima potpomognute multikomponentne reakcije ciklokondenzacije. Ovom metodom dobiveni su željeni produkti u dobrom iskorištenju i u vrlo kratkom vremenu koristeći 10mol% NaOH kao eko-prihvatljivu bazu. Navedeni derivati testirani su protiv panela patogenih sojeva bakterija i gljivica u svrhu ispitivanja antimikrobne aktivnosti te protiv *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv u svrhu ispitivanja antituberkulozne aktivnosti. Skupina autora sintetizirala je derivate pirido[1,2-*a*]benzimidazola s β -ariloksikinolinskom jezgrom u nadi da će spajanjem dviju biopotentnih jedinica u jedan skelet proizvesti nove heterocikličke molekule s obećavajućim biološkim aktivnostima. Kinolinski derivati pokazuju širok spektar korisnih bioloških svojstava uključujući antituberkulozna, antibakterijska, antigljivična, antimalarijska, protuupalna i antitumorska.

Povrh toga, prisutnost arilnog prstena spojenog preko eterske veze na β -položaj kinolinske jedinice pokazala se odgovornom za aktivnost ovakvih spojeva protiv *Mycobacterium tuberculosis* i zato ima ključnu ulogu u razvoju novih antituberkuloznih lijekova. S druge strane pirido[1,2-*a*]benzimidazoli počeli su privlačiti pažnju organskih i medicinskih kemičara tek posljednjih nekoliko godina zbog svojih raznovrsnih sinteznih i bioloških aktivnosti kao što su antituberkulozna, antimikrobna, anti HIV-1, antikancerogena, antivirusna i antimalarična. Da bi unaprijedili metodu sinteze Sangani i suradnici primijenili su princip mikrovalovima-potpomognute organske sinteze te su izabrali NaOH kao neopasnu bazu koja olakšava konstrukciju željenih derivata s više efikasnosti u kraćem reakcijskom vremenu. Potrebni međuprodukti, 2-klorokinolin-3-karbaldehidi **182a–c** priređeni su Vilsmeier-Haack-ovom reakcijom različito supstituiranih anetanilida. Sintetski prekursori β -ariloksikinolin-3-karbaldehidi **184a–l** sintetizirani su nukleofilnom supstitucijom klora na položaju C2 spojeva **182a–c** s različitim fenolima **183a–d**. Supstituirani pirido[1,2-*a*]benzimidazo-2,4-dikarbonitrilni derivati **187a–x** uspješno su sintetizirani mikrovalovima potpomognutom trokomponentnom ciklokondezacijom β -ariloksikinolin-3-karbaldehida **184a–l**, malononitrila **185** i 2-cijanometilbenzimidazola **186a,b** prema Shemi 18.



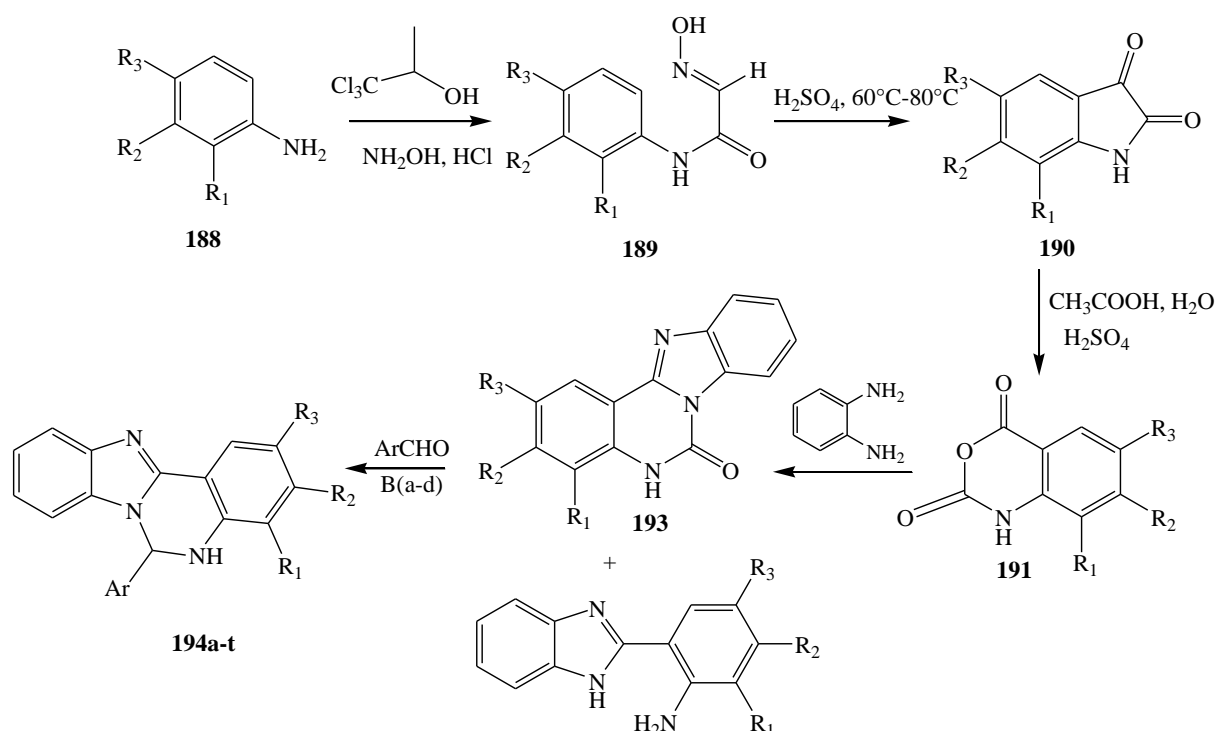
Shema 18. Reakcijski put sinteze spojeva **184a–l** i spojeva **187a–x**.

Spojevima **187a–x** ispitana je antibakterijska aktivnost protiv *Bacillus subtilis* (MTCC 441), *Clostridium tetani* (MTCC 449), *Streptococcus pneumoniae* (MTCC 1936), *Escherichia coli* (MTCC 443), *Salmonella typhi* (MTCC 98) i *Vibrio cholerae* (MTCC 3906) bakterija te antigljivične aktivnosti protiv *Aspergillus fumigatus* (MTCC 3008) i *Candida albicans* (MTCC 227) gljivica. Antibakterijsko ispitivanje otkrilo je da protiv Gram pozitivne bakterije *Bacillus subtilis*, spojevi **187a**, **187f** i **187w** (MIC = 100 µg/ml) imaju veći antibakterijski potencijal od ampicilina te jednaki s norfloksacinom. Spojevi **187g**, **187s** i **187v** (MIC = 125 µg/ml) u usporedbi s ampicilinom imaju značajnu aktivnost. Bolju aktivnost od ampicilina imaju spojevi **187e**, **187j**, **187l**, **187m** i **187r** (MIC = 200 µg/ml), dok ekvivalentnu aktivnost s ampicilinom imaju spojevi **187b**, **187c**, **187d**, **187h**, **187i**, **187k**, **187n**, **187o**, **187t**, **187u** i **187x** (MIC = 250 µg/ml). Protiv *Clostridium tetani* spoj **187n** (MIC = 62,5 µg/ml) je pokazao nevjerojatnu aktivnost u usporedbi s ampicilinom i ciprofloksacinom, dok su spojevi **187a**, **187i**, **187s**, **187t** i **187x** (MIC = 100 µg/ml) značajnu aktivnost u usporedbi s ampicilinom te ekvivalentnu u usporedbi s ciprofloksacinom. Protiv *S. pneumoniae* spoj **187a** (MIC = 62,5 µg/ml) je pokazao veću aktivnost od spojeva **187g**, **187p**, **187q**, **187v** i **187x** koji imaju aktivnost identičnu ampicilinu. Protiv Gram negativne bakterije *E. coli*, spojevi **187e**, **187n**, **187p** i **187u** (MIC = 62,5 µg/ml) pokazuju izvanrednu aktivnost, dok spojevi **187b**, **187f**, **187m**, **187o** i **187x** (MIC = 100 µg/ml) imaju istu aktivnost u usporedbi s ampicilinom. Protiv *S. typhi* spojevi **187b**, **187e**, **187u** i **187v** (MIC = 100 µg/ml) imaju istu aktivnost kao i ampicilin. Protiv *V. cholerae* spojevi **187b**, **187f** i **187t** (MIC = 100 µg/ml) pokazuju jednaku aktivnost kao i ampicilin. Ispitivanjem antifungalnih svojstava protiv *C. albicans* spoj **187o** (MIC = 200 µg/ml) pokazuje nevjerojatnu aktivnost, spojevi **187c**, **187e**, **187h** i **187p** (MIC = 250 µg/ml) izvanrednu aktivnost dok spojevi **187d**, **187i**, **187j**, **187m**, **187n**, **187q**, **187r**, **187w** i **187x** (MIC = 500 µg/ml) pokazuju jednaku aktivnost u usporedbi s griseofulvinom. Ni jedna od sintetiziranih komponenti nije aktivna protiv *A. fumigatus*. Sintetiziranim spojevima ispitana su i antituberkulozna svojstva protiv *M. tuberculosis* H37Rv. Rezultati ispitivanja prikazani su kao relativni postotak inhibicije lijeka u odnosu na standarde izoniazid i rifampicin. Između spojeva kojima je ispitana antituberkulozna aktivnost, spojevi **187p** (R₁ = H, R₂ = F, R₃ = CH₃), **187t** (R₁ = CH₃, R₂ = F, R₃ = CH₃), **187x** (R₁ = OCH₃, R₂ = F, R₃ = CH₃) i **187h** (R₁ = CH₃, R₂ = F, R₃ = H) imaju bolju aktivnost protiv *M. tuberculosis* H37Rv i pokazuju najveći % inhibicije. MIC vrijednosti ovih spojeva redom iznose: 6,25, 12,5, 12,5 i 25 µg/ml. Među svim navedenima, spoj **187p** (R₁ = H, R₂ = F, R₃ = CH₃) pokazuje obećavajuća antimikrobna svojstva te izvanrednu antituberkuloznu aktivnost. Može se

zaključiti da spojevi **187a**, **187e**, **187n**, **187p** i **187u** imaju izvrsna antibakterijska svojstva dok spojevi **187o** i **187p** pokazuju bolja antifungalna svojstva. Studija korelacije strukture i biološke aktivnosti pokazala je da antimikrobni i antituberkulozni potencijal navedenih spojeva ovisi o bicikličkoj heteroaromatskoj farmakofori prikačenoj preko eterski vezanog arilnog prstena ali i o prirodi periferalnih substituenata, njihovim prostornim interakcijama i položajima. Nesupstituirani spoj **187a** pokazuje značajnu aktivnost protiv svih Gram pozitivnih bakterija. Protiv *B. subtilis* spojevi s CH₃ i OCH₃ skupinama u *para* položaju na eterski povezanom arilnom prstenu daju bolje rezultate u usporedbi s ostalim spojevima u seriji. Spojevi s nesupstituiranim kinolinskim prstenom i CH₃ skupinom na benzimidazolskom prstenu inhibiraju rast *C. tetani* i pokazuju bolju aktivnost od ampicilina i ciprofloksacina, primjerice, spojevi **187n**, **187r**, **187s**, **187t**, **187v**, **187w** i **187x**. Spojevi koji imaju H/CH₃ skupine na kinolinskom prstenu i CH₃ skupinu na benzimidazolskom prstenu imaju povećanu antibakterijsku učinkovitost protiv *S. pneumoniae*. Protiv *E. coli* spojevi, koji imaju CH₃ skupinu na kinolinskom i benzimidazolskom prstenu, **187e**, **187n**, **187p** i **187u** pokazuju bolju aktivnost od ostalih. Spojevi sa CH₃ skupinom na kinolinskom, ariloksi ili benzimidazolskom prstenu imaju veći potencijal za inhibiciju rasta *S. typhi*. U slučaju *V. cholerae* spojevi s CH₃ skupinom na kinolinskom ili ariloksi prstenu imaju isti potencijal kao ampicilin, primjerice spojevi **187b**, **187f** i **187t**. Na osnovi studije korelacije strukture i biološke aktivnosti, uočeno je da spojevi s F atomom na eterski povezanom arilnom prstenu spojenom na kinolin te CH₃ skupinom na benzimidazolskoj jedinici (**187h**, **187p**, **187t** i **187x**) pokazuju veći potencijal protiv *M. tuberculosis* H37Rv. Navedeni rezultati pokazuju da elektronski utjecaj oba, OCH₃ (elektron-donor) i F (elektron-akceptor) supstituenta, utječu na antimikrobnu aktivnost do nekog udjela, dok jedino fluor utječe na antituberkuloznu aktivnost testiranih spojeva. Ovom studijom potvrđeno je da su se sintetizirane molekule pokazale kao dobri i obećavajući antimikrobni i antituberkulozni agensi.

2014. godine P. P. Joshi i S. G. Shirodkar²⁰ pokazali su novi pristup sintezi derivata 6-aril-5,6-dihidrobenzimidazo[1,2-*c*]kinazolina te su ispitali njihova biološka svojstva. Benzimidazoli i kinazolini su najopsežnije proučavane klase heterocikličkih spojeva, koji zaokupljaju kako sintetske organičare tako i medicinske kemičare, zbog raznolikog dosega njihovih bioloških aktivnosti i njihove primjene u nekoliko područja elektrokemije kao antikorozivnih agenasa, kao polimeri i fluorescentne oznake u DNA sekvencioniranju. Općenito, kinazolinski spojevi preponati su po svojim dobrim farmakološkim svojstvima kao što su protuupalna, antihipertenzivna, anti-HIV, bronhodilatatorska, antialergijska,

antikancerogena, antiepileptična, antihelmintička, analgetična, antimalarična i antimikrobna svojstva. Sinteza derivata 6-aril-5,6-dihidrobenzimidazo[1,2-*c*]kinazolina **194a-t** prikazana je na Shemi 19. Aromatični amini **188** tretirani su kloral-hidratom i hidroksilamin-hidrokloridom da bi se dobio supstituirani izatin **189**, koji je pretvoren u supstituirani izatoinski anhidrid **190** koristeći octenu kiselinu. Spojevi **190** su tretirani s *o*-fenilendiaminom kako bi se dobili supstituirani 2-(2-aminofenil) benzimidazoli **191**. Serije 6-aril-5,6-dihidrobenzimidazo[1,2-*c*]kinazolina **194a-t** su sintetizirane kondenzacijom **191** s različitim arilnim aldehydima.

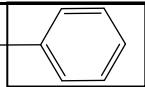
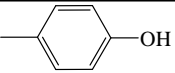
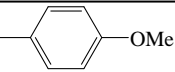
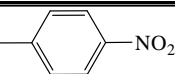
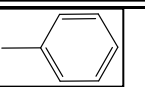
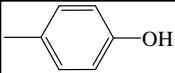
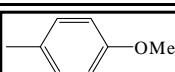


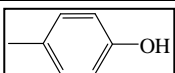
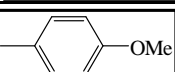
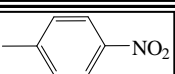
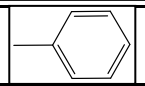
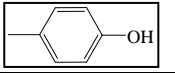
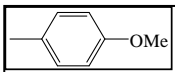
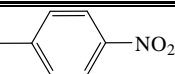
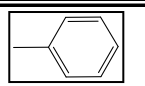
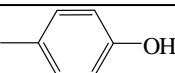
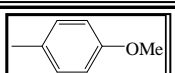
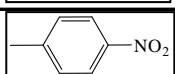


Shema 19. Reakcijski put sinteze spojeva **194a-t**.

U sklopu svog istraživanja ispitali su biološke aktivnosti svih sintetiziranih dihidrobenzimidazokinazolina protiv različitih bakterija i gljivica. Među testiranim spojevima, neki su se spojevi pokazali nadmoćni u sprječavanju svih bakterijskih i gljivičnih sojeva. Antimikrobne aktivnosti ispitane su protiv Gram pozitivne (*S.aureus*) i Gram negativne bakterije (*E.Coli*) i gljivičnih sojeva (*C.albicans*). Spoj **194s** pokazao je obećavajuću aktivnost, dok je umjerena aktivnost uočena kod **194b**, **194f**, **194g**, **194n** i **194r** protiv *S.aureus*. Protiv *E.Coli* najbolju aktivnost pokazali su spojevi **194c**, **194f**, **194j** a srednju aktivnost spojevi **194g**, **194k**, **194o** i **194s**. Kod spojeva **194d**, **194e**, **194h**, **194i**, **194l**,

194p, 194q i 194t uočeno je da posjeduju antigljivične aktivnosti protiv *C.albicans*. U Tablici 8 prikazana su fizikalna svojstva sintetiziranih derivata.

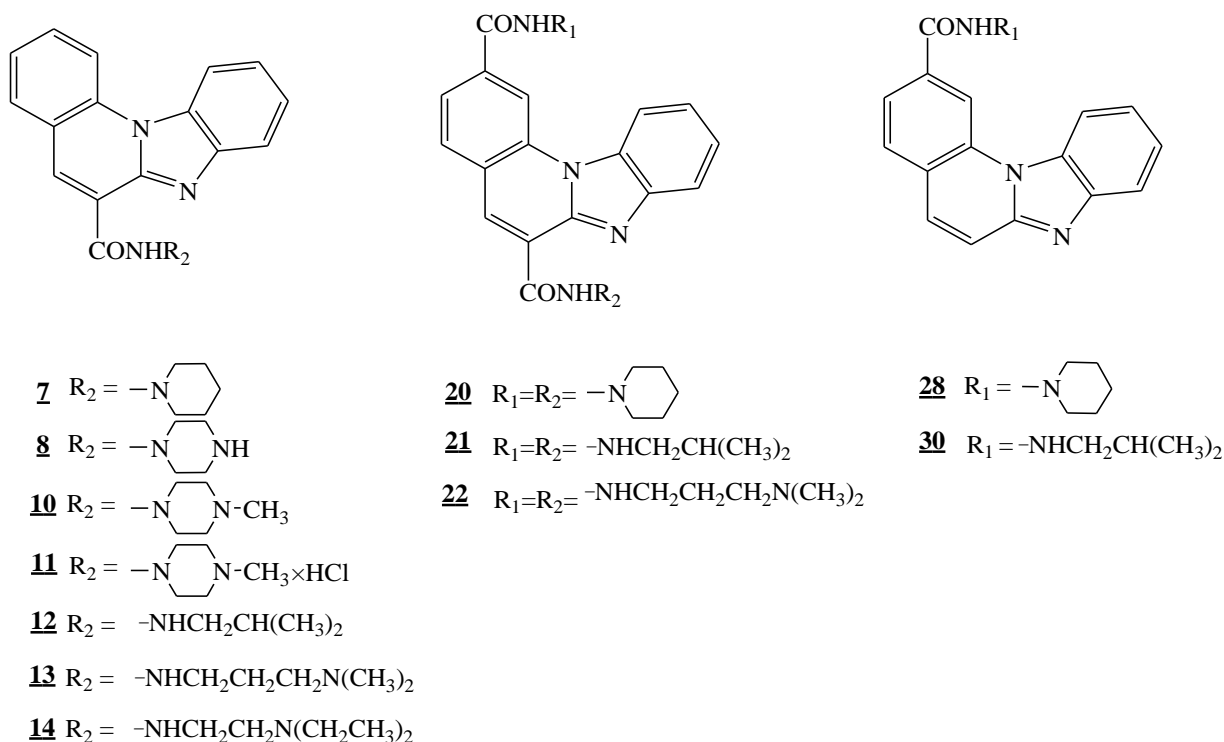
Tablica 8. Fizikalna svojstva komponenata **a–t**.

Spoj	R ₁	R ₂	R ₃	Ar	T _v °C	iskorištenje %
a	H	H	H		220	70
b	H	H	H		300	65
c	H	H	H		187	70
d	H	H	H		252	62
e	C1	H	H		240	60
f	C1	H	H		235	67
g	C1	H	H		244	62
h	C1	H	H		238	68
i	H	H	C1		249	60
j	H	H	C1		198	74
k	H	H	C1		220	60
l	H	H	C1		212	64
m	CH ₃	H	H		265	70
n	CH ₃	H	H		252	68
o	CH ₃	H	H		175	62
p	CH ₃	H	H		205	60
q	H	H	NO ₂		234	58
r	H	H	NO ₂		225	55
s	H	H	NO ₂		242	58
t	H	H	NO ₂		254	0

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Cilj rada

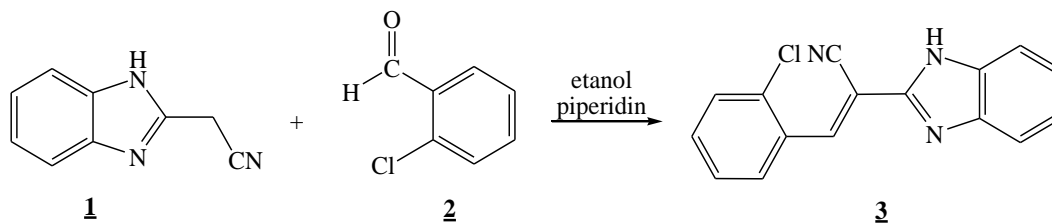
Cilj ovog rada bio je prirediti potencijalno biološki aktivne supstituirane 2-karboksamido, 6-karboksamido i 2,6-dikarboksamido derivate benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **7**, **8**, **10–14**, **20–22**, **28** i **30**. Svi spojevi priređeni su uobičajenim metodama organske sintetske kemije. Glavni prekursori za sintezu amido supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina, acilnih halogenida, priređeni su iz odgovarajućih karboksilnih kiselina dobivenih kiselom hidrolizom cijano supstituiranih benzimidazo[1,2-*a*]kinolina. Struktura svih novopriređenih spojeva potvrđena je korištenjem NMR spektroskopije a spektroskopska karakterizacija pripravljenih spojeva provedena je korištenjem UV/Vis i fluorimetrijske spektroskopije matičnih otopina priređenih u etanolu.



Slika 16. Strukture ciljanih spojeva

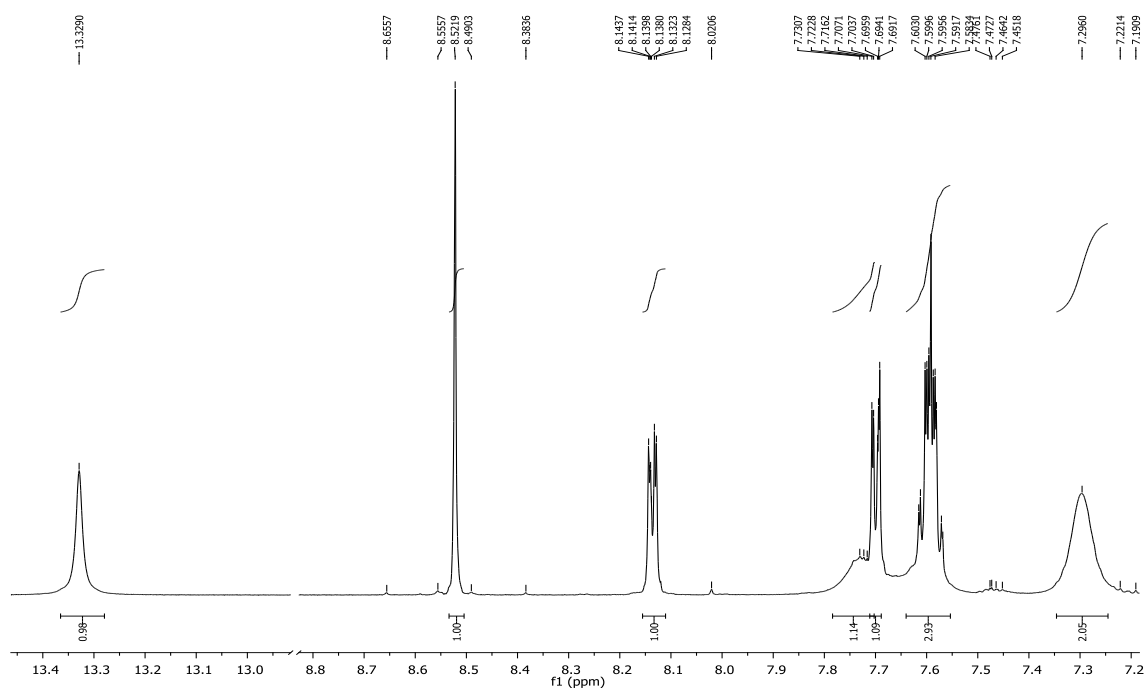
3.2. Sinteza ciljanih spojeva

2-(2-benzimidazolil)-3-(2-klorfenil)akrilonitril **3** priređen je reakcijom kondenzacije 2-cijanometilbenzimidazola **1** i 2-klorbenzaldehida **2** uz zagrijavanje u iskorištenju od 95%.^{21,22}



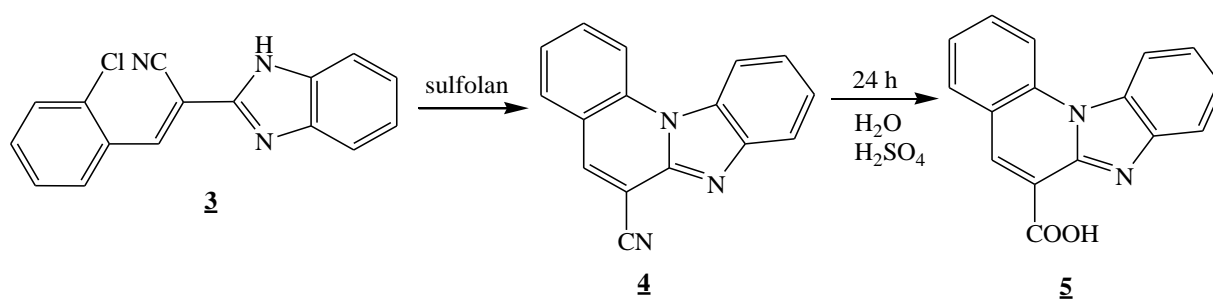
Shema 20. Priprava 2-(2-benzimidazolil)-3-(2-klorfenil)akrilonitrila **3**

Struktura spoja **3** potvrđena je ¹H HMR i ¹³C NMR spektroskopijom (Prilog 1), a u ¹H HMR spektru na Slici 17. može se uočiti odgovarajući broj aromatskih protona u području 8,52–7,30 ppm te signal na 13,33 ppm koji odgovara dušikovom protonu na benzimidazolskoj jezgri.



Slika 17. ¹H NMR spektar spoja **3**

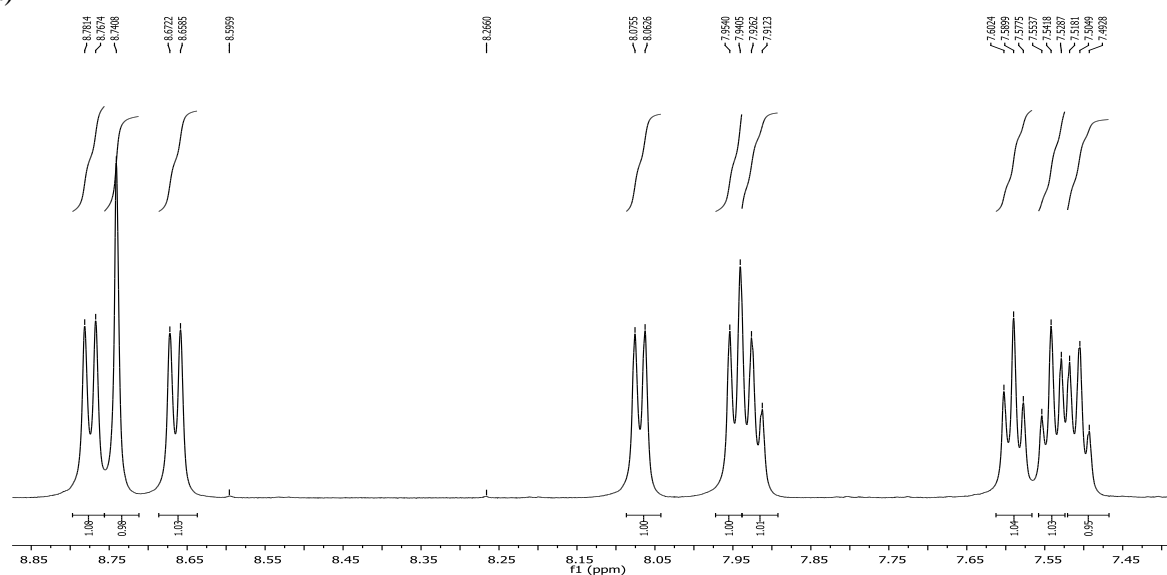
Termičkom ciklizacijom spoja **3** u sulfolanu pri 280 °C priređen je ciklički prekursor, 6-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin **4** (64%), koji hidrolizom s vodenom otopinom sumporne kiseline daje benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karboksilnu kiselinu **5** u 68%-tnom iskorištenju.²³



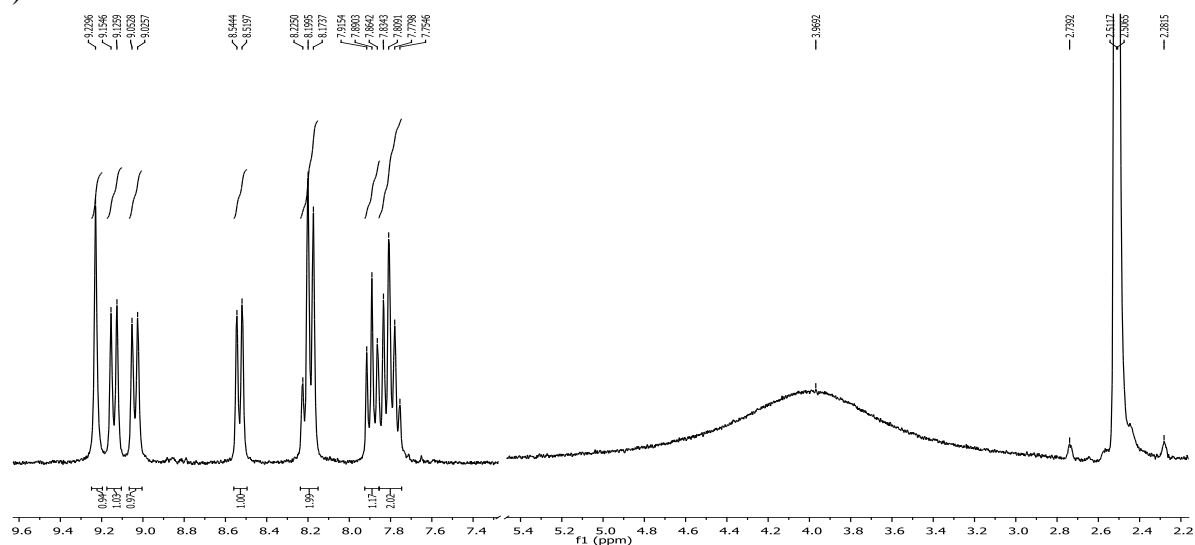
Shema 21. Priprava spojeva 4 i 5

Strukture spojeva **4** i **5** potvrđene su NMR spektroskopijom a na Slici 18. a i b prikazani su ^1H NMR spektri navedenih spojeva. U ^1H NMR spektru spoja **4** u području 8,78–7,45 ppm može se uočiti odgovarajući broj aromatskih protona.

a)



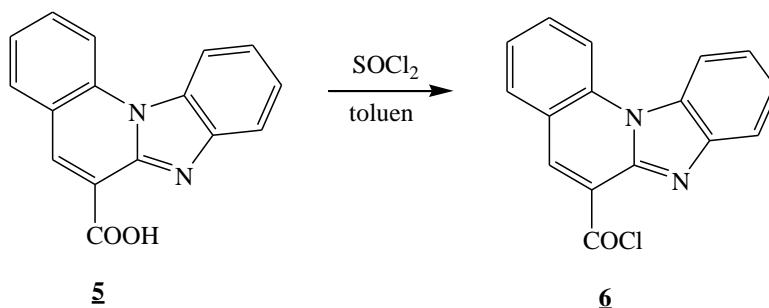
b)



Slika 18. a) ^1H NMR spektar spoja 4; b) ^1H NMR spektar spoja 5

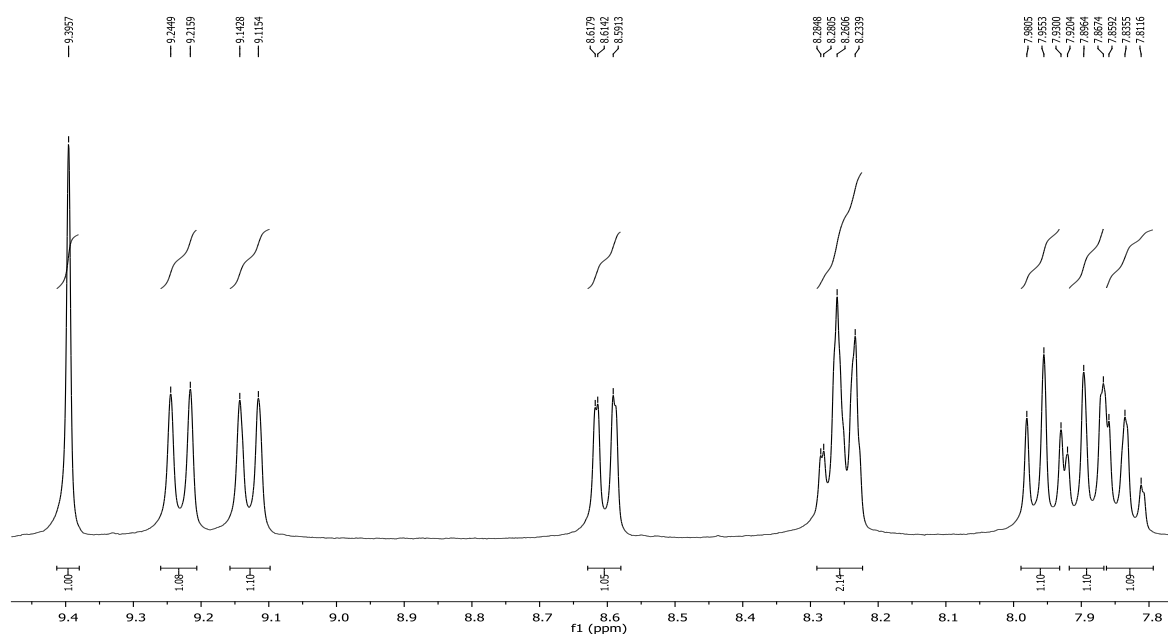
U odnosu na signale aromatskih protona cijano supstituiranog benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **4**, svi signali aromatskih protona u karboksilnoj kiselini **5** pomaknuti su u niže magnetsko polje jer elektronegativniji kisikovi atomi u spoju **5** uzrokuju jače odsjenjenje aromatskih protona.

Acilni klorid **6**, glavni je prekursor u sintezi derivata 6-karboksamida **7**, **8**, **10-14**, a priređen je reakcijom karboksilne kiseline **5** s tionil-kloridom.²⁴



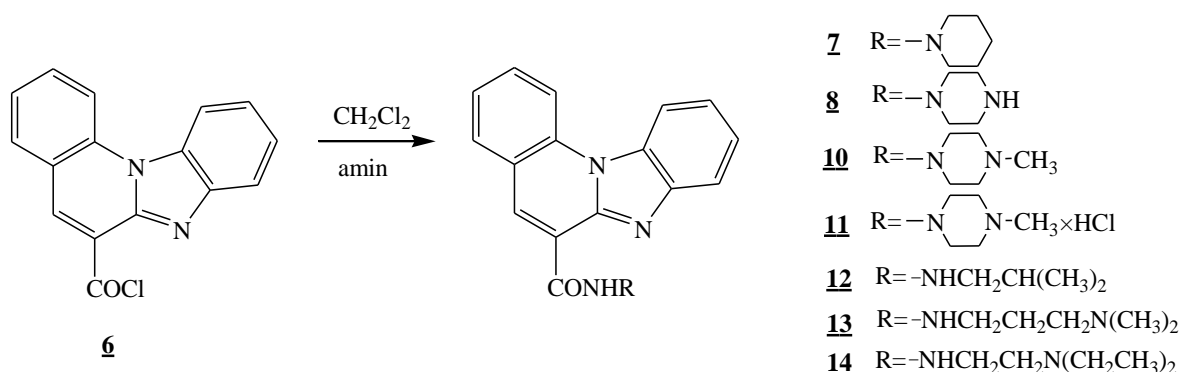
Shema 22. Priprava spoja **6** i spojeva **7**, **8**, **10-14**

Struktura spoja **6** potvrđena je NMR spektroskopijom te je ¹H NMR spektar navedenog spoja prikazan na Slici 19. U spektru se mogu uočiti signali svih aromatskih protona te nestanak širokog singleta oko 4 ppm koji je odgovarao protonima karboksilne skupine.



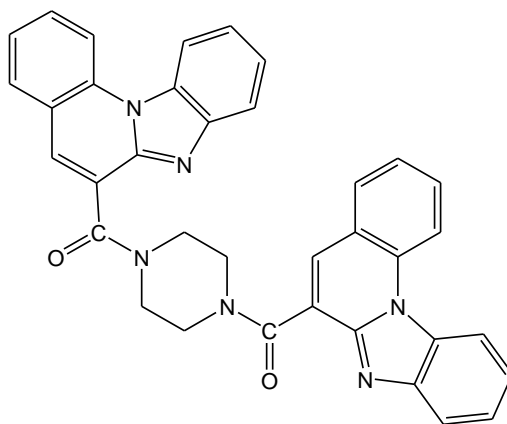
Slika 19. ¹H NMR spektar spoja **6**

6-amido supstituirani benzimidazo[1,2-*a*]kinolini **7**, **8** i **10–14** priređeni su u reakciji acilnog halogenida **6** s odgovarajućim aminima u dobrim iskorištenjima. Kolonskom kromatografijom na silikagelu kao adsorbensu i sustavu diklormetan/metanol kao eluensu dobiveni su čisti produkti **7**, **8**, **10–14** čije su strukture potvrđene NMR spektroskopijom (Prilog 5, Prilog 6, Prilog 8-12).²⁵



Shema 23. Priprava spojeva **7**, **8**, **10–14**

Prilikom sinteze karboksamida **8**, u reakciji s piperazinom, izoliran je i metanonski derivat **9** čija je struktura prikazana na Slici 20. Produkt **9** nastao je povezivanjem dvije molekule benzimidazo[1,2-*a*]kinolina preko piperazinske jezgre u 24%-tnom iskorištenju.

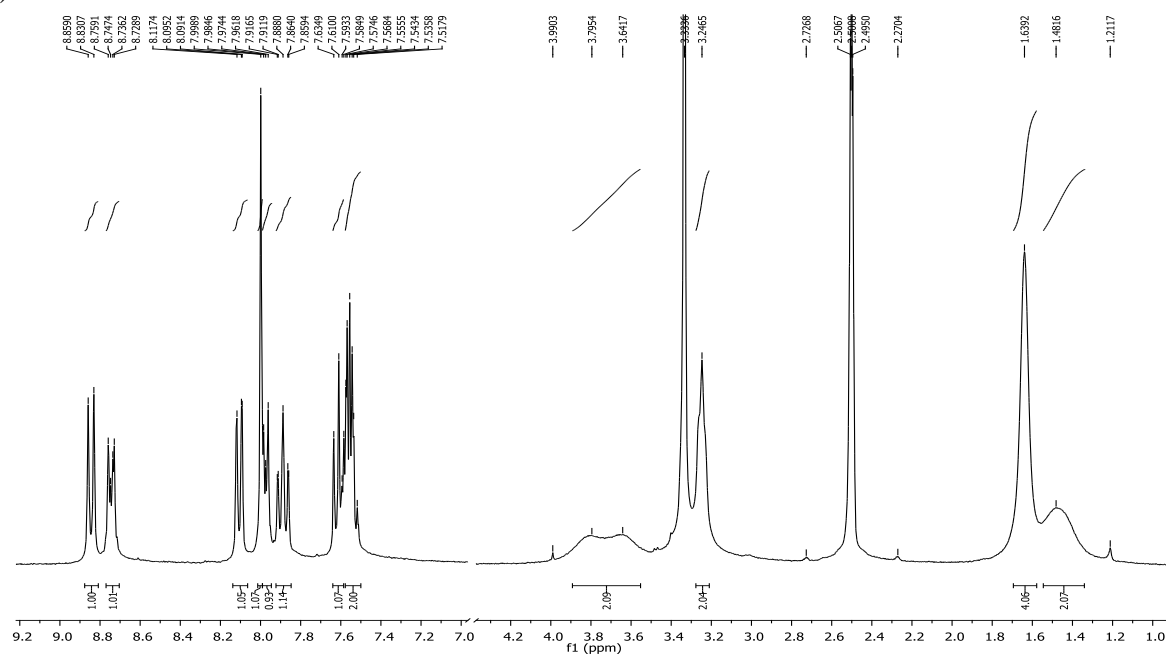


Slika 20. Struktura [4-(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonil)piperazin-1-il]-(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)metanon **9**

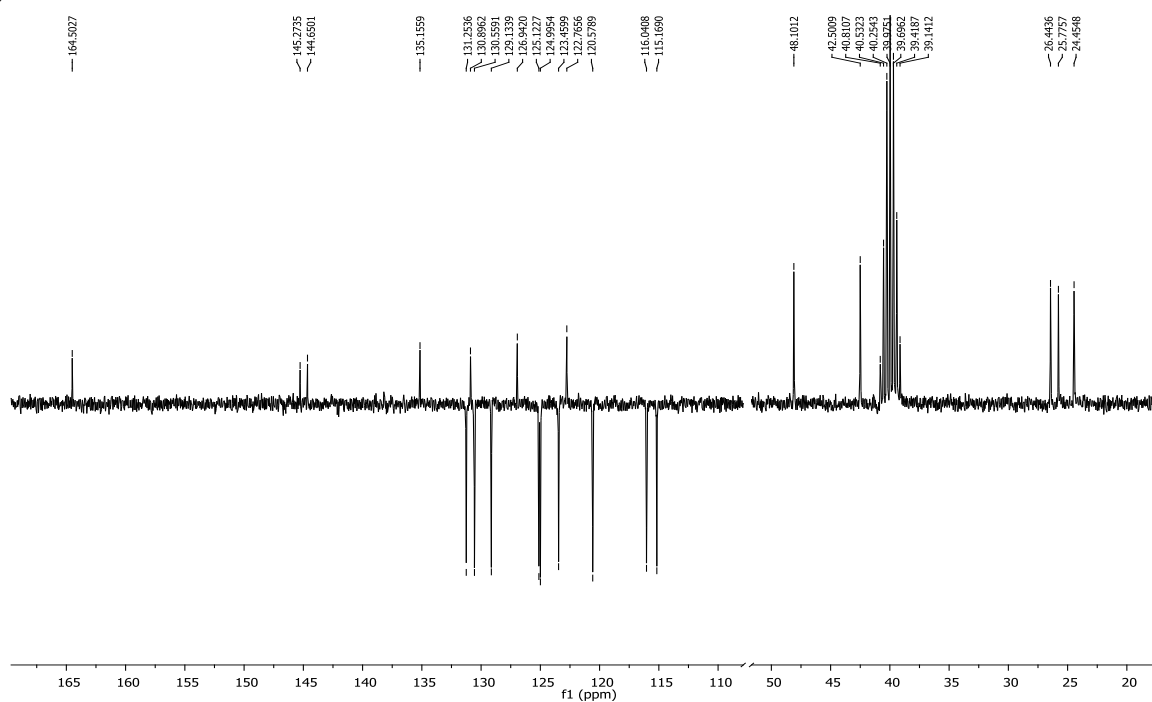
Na Slici 21. a i b prikazani su ¹H NMR i ¹³C NMR spektri spoja **7**. U ¹H NMR spektru uočava se odgovarajući broj signala u području 8,86–7,52 ppm koji odgovaraju aromatskim protonima benzimidazo[1,2-*a*]kinolina i odgovarajući broj signala u području 3,80–1,48 ppm koji odgovaraju alifatskim protonima piperidinske jezgre. U ¹³C NMR spektru spoja **7** uočava se odgovarajući broj signala koji odgovaraju kvaternim ugljikovim atomima, odgovarajući

broj signala CH skupina iz aromatskog dijela molekule te odgovarajući broj signala CH₂ skupina piperidinske jezgre.

a)

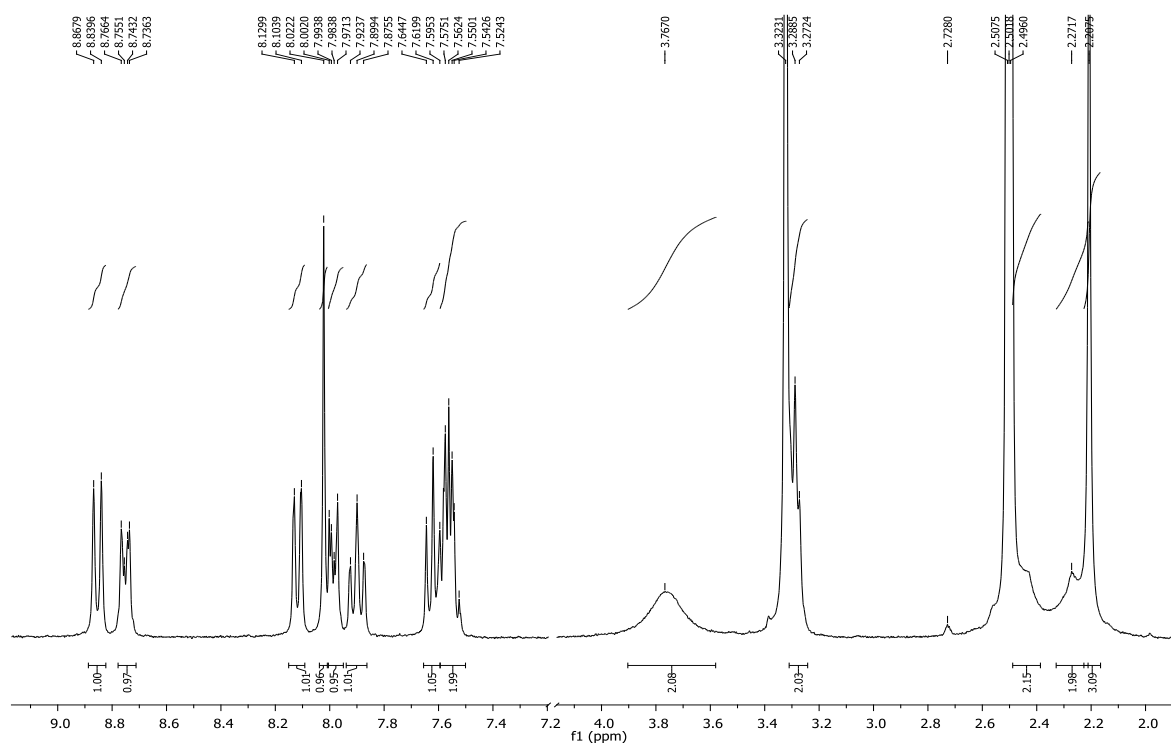


b)



Slika 21. a) ¹H NMR spektar spoja 7; b) ¹³C NMR spektar spoja 7

4-*N*-metilpiperazinilni derivat benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **10** pripravljen je u reakciji acilnog-klorida **6** s *N*-metilpiperazinom u diklormetanu u slabom iskorištenju (13%). Na Slici 22 prikazan je njegov ^1H NMR spektar.



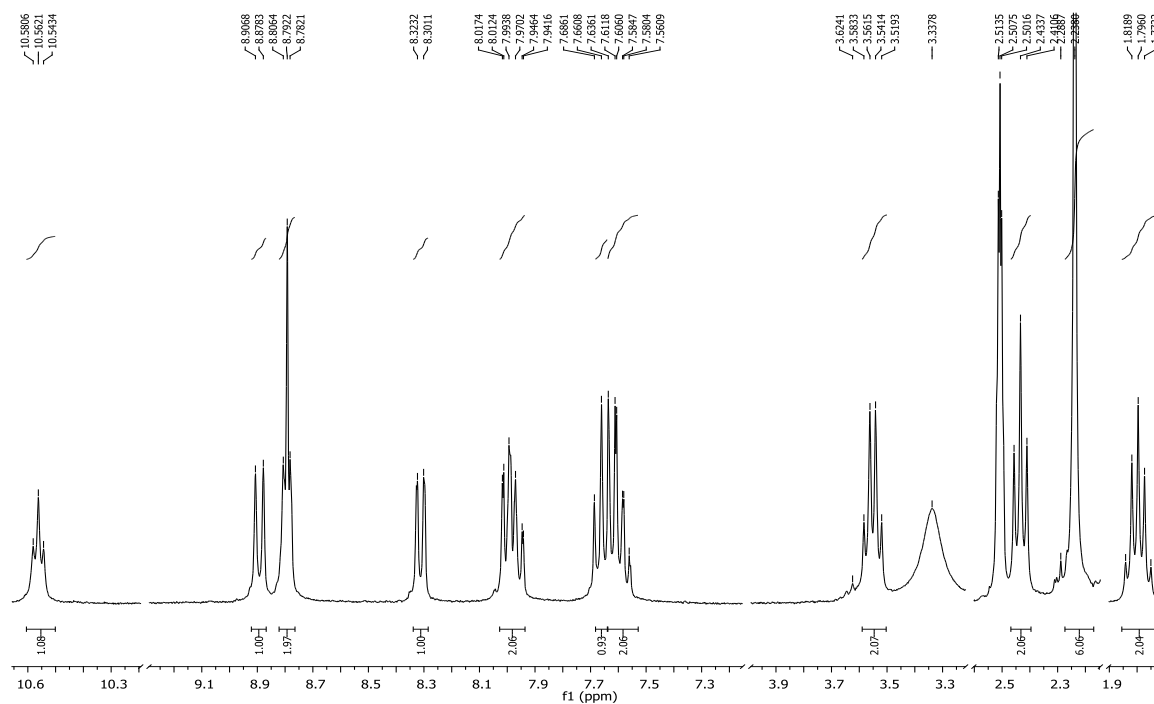
Slika 22. ^1H NMR spektar spoja **10**

U ^1H NMR spektru uočava se odgovarajući broj signala aromatskih protona u području 8,87–7,52 ppm i odgovarajući broj alifatskih protona CH_2 skupina u području 3,77–2,27 ppm s karakterističnim singletom na 2,21 ppm koji predstavlja metilnu skupinu na piperazinskoj jezgri. Uz spoj **10** izolirana je i hidrokloridna sol metilpiperazina, (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(4-*N*-metilpiperazin-1-il)metanon-hidroklorid **11** u iskorištenju 73% čija je struktura također potvrđena ^1H NMR spektrom (Prilog 9). Hidrokloridna sol **11** izolirana je prilikom provođenja reakcije acilnog halogenida **6** s ekvimolarnom količinom *N*-metilpiperazina.

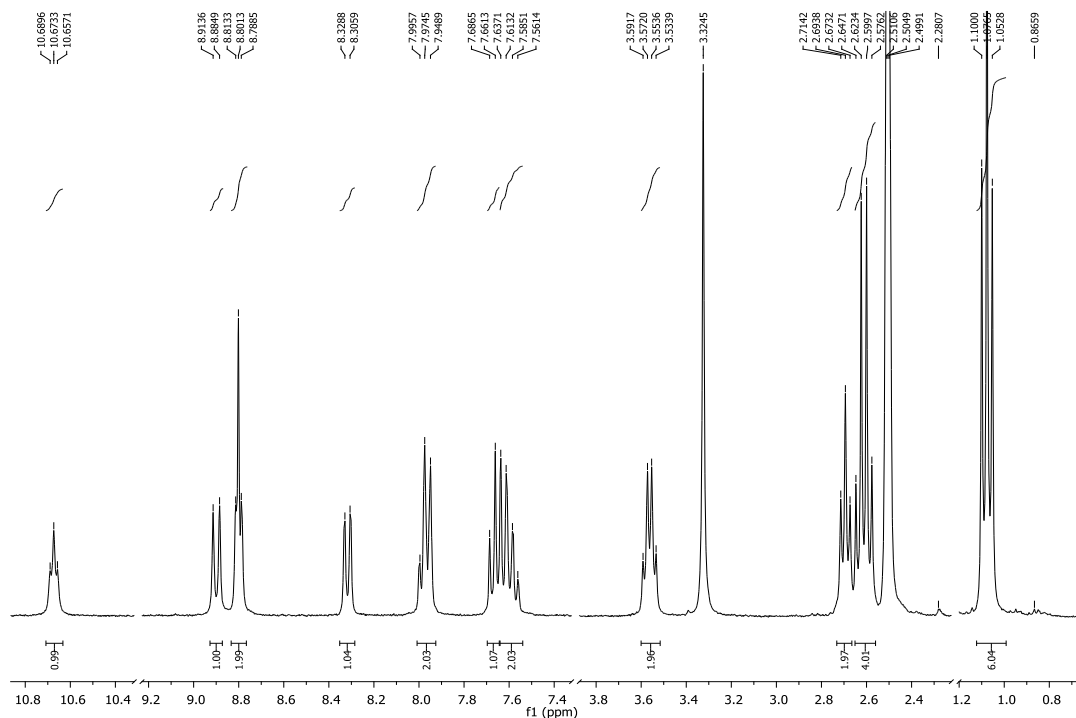
Na Slici 23. a i b, prikazani su ^1H NMR spektri spojeva **13** i **14**. ^1H NMR spektar spoja **13** (Slika 23.a) pokazuje odgovarajući broj signala aromatskih protona u području 8,90–7,56 ppm, odgovarajući broj signala protona metilenskih skupina amidnog supstituenta na ~3,53 ppm, 2,43 ppm i ~1,79 ppm te signal na 2,23 ppm koji predstavlja signale protona metilnih skupina na dimetilaminopropilaminskom lancu. Na Slici 23.b, u području 8,91–7,56 ppm

uočava se odgovarajući broj signala aromatskih protona spoja **14**, signal koji odgovara NH protonu na ~10,70 ppm te signali alifatskih protona dietilaminoetilamina u području 3,59–1,07 ppm.

a)



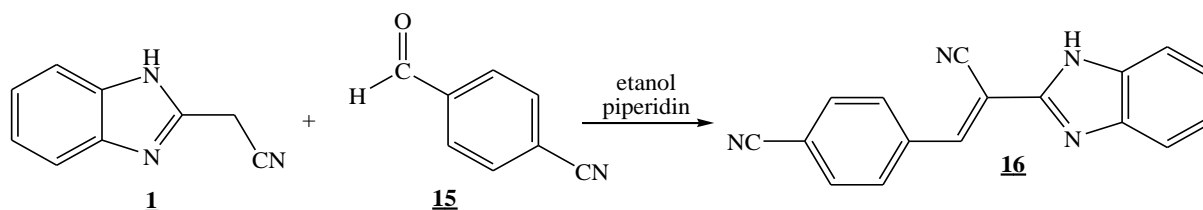
b)



Slika 23. a) ^1H NMR spektar spoja **13**; b) ^1H NMR spektar spoja **14**

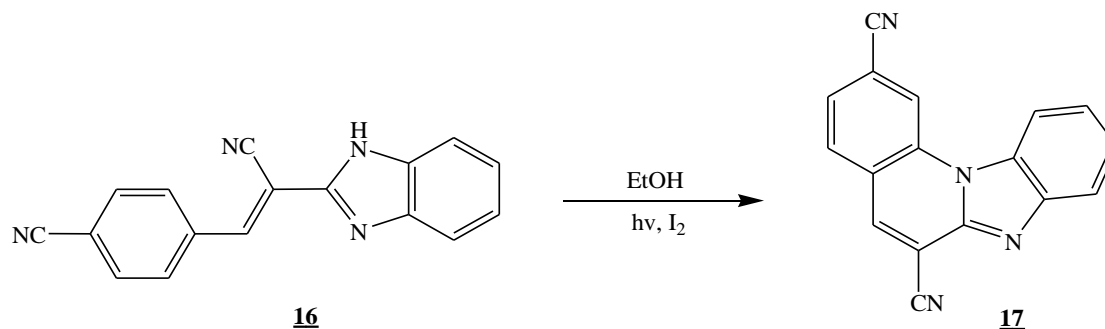
Nakon sinteze derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina s karboksamidnom skupinom na položaju C-6, provedena je sinteza disupstituiranih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina s karboksamidnim skupinama na C-2 i C-6 položajima.

Priprava acikličkog derivata 2-(2-benzimidazolil)-3-(4-cijanofenil)akrilonitrila **16** provedena je kondenzacijom 2-cijanometilbenzimidazola **1** i 4-cijanobenzaldehida **15** uz zagrijavanje u etanolu uz dodatak piperidina, u vrlo dobrom iskorištenju, 84%, kao što prikazuje Shema 24.²⁶



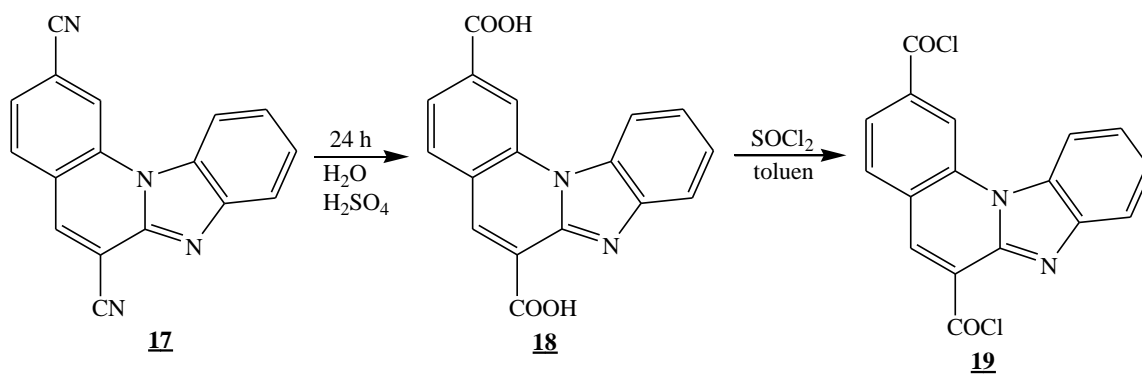
Shema 24. Priprava 2-(2-benzimidazolil)-3-(4-cijanofenil)akrilonitrila **16**

Glavni prekursor za sintezu ciljanih 2,6-disubstituiranih derivata **20-22**, 2,6-dicijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin **17** priređen je reakcijom fotokemijske dehidrociklizacije spoja **16** u etanolnoj otopini uz dodatak joda te osvjetljavanjem visokotlačnom živinom lampom od 400 W uz propuhivanje zraka kako je prikazano na Shemi 25. Tijek fotokemijske dehidrociklizacije praćen je UV/Vis spektroskopijom.⁵



Shema 25. Priprava 2,6-dicijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina **17**

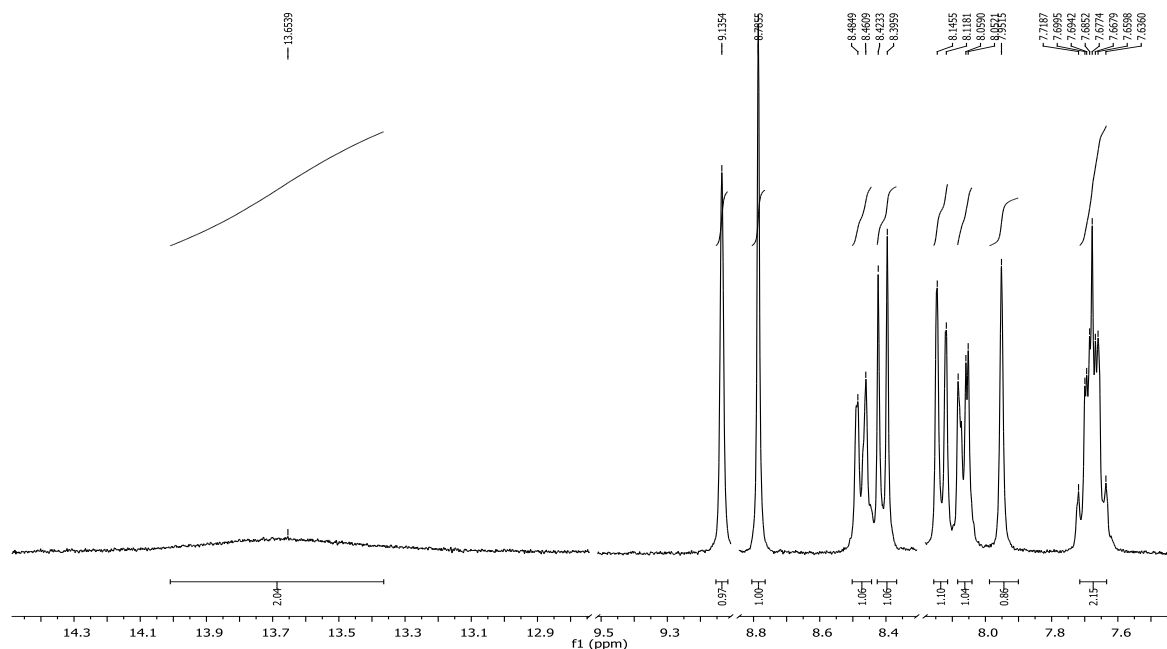
Hidrolizom 2,6-dicijano derivata **17** vodenom otopinom sumporne kiseline uz zagrijavanje nastaje benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2,6-dikarboksilna kiselina **18** u 75%-tnom iskorištenju. Nadalje je iz dikiseline **18** u reakciji s tionil-kloridom priređen acilni halogenid **19**, kao temeljni prekursor za sintezu 2,6-dikarboksamidnih derivata **20-22**.²⁴



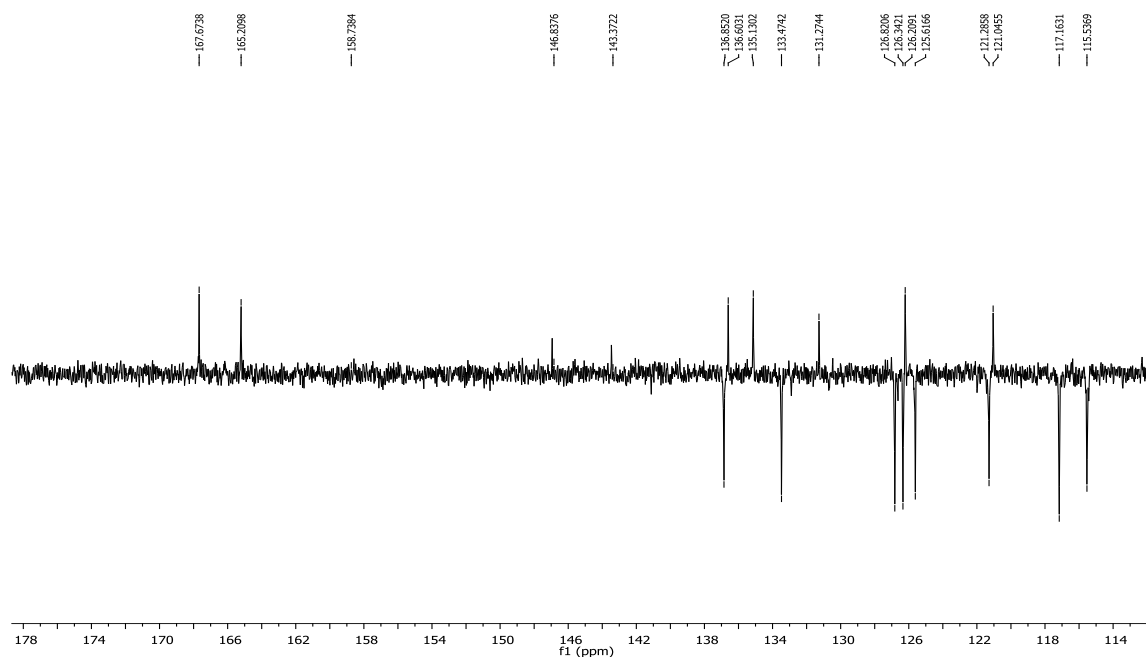
Shema 26. Priprava spojeva **18** i **19**

Struktura benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2,6-dikarboksilne kiseline **18** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom kako je i prikazano na Slici 24. a i b. U ^1H NMR spektru spoja **18** uočava se odgovarajući broj aromatskih protona u području 9,14–7,64 ppm te dva protona karboksilnih skupina na ~13,65 ppm. ^{13}C NMR spektar spoja **18** pokazuje odgovarajući broj signala kvaternih ugljikovih atoma kao i odgovarajući broj signala ugljikovih atoma iz CH skupina. Signali na 167,67 ppm i 165,21 ppm odgovaraju ugljikovim atomima iz dviju COOH skupina.

a)

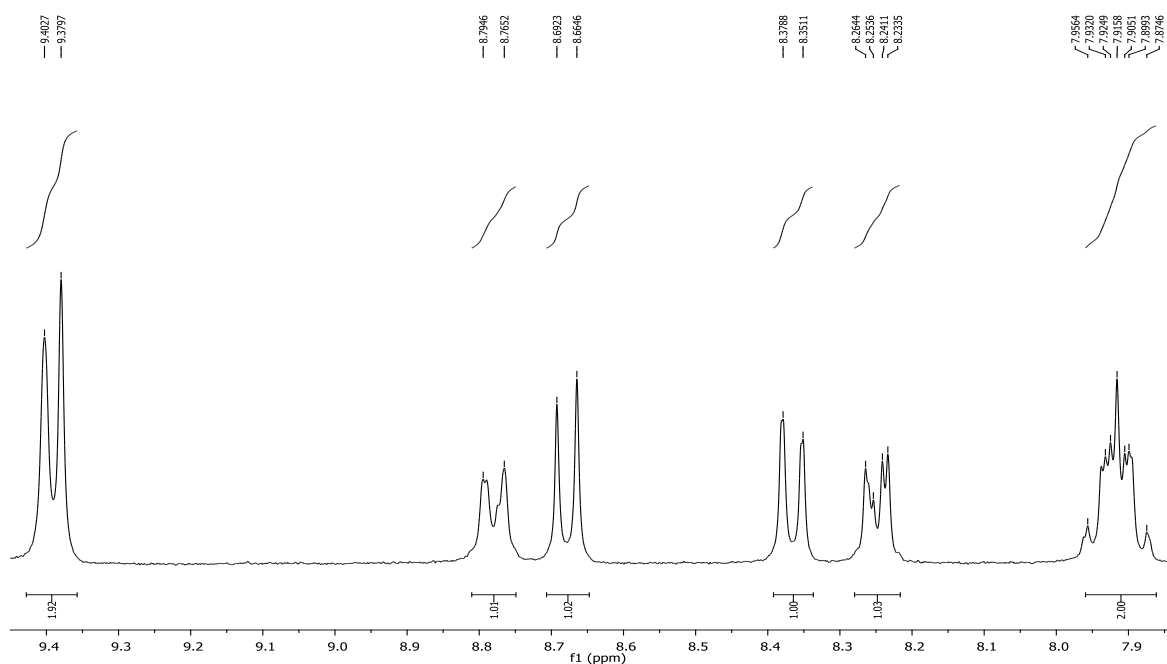


b)



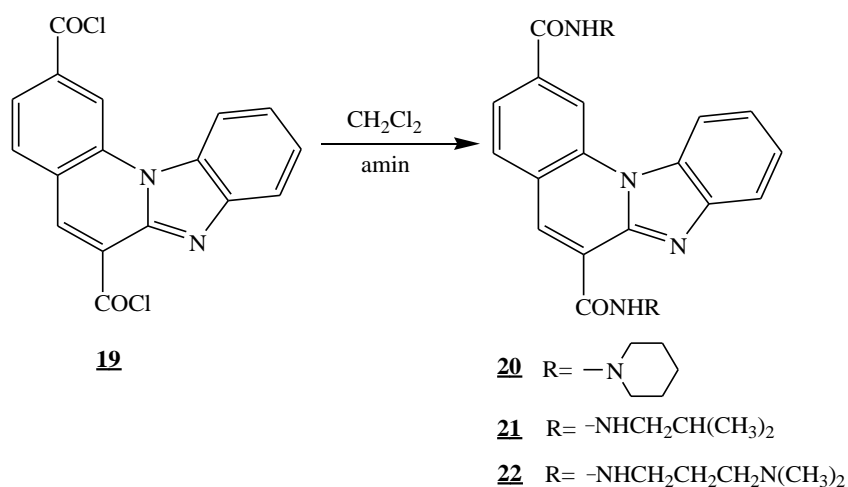
Slika 24. a) ^1H NMR spektar spoja **18**; b) ^{13}C NMR spektar spoja **18**

U ^1H NMR spektru spoja **19**, prikazanom na Slici 25, može se uočiti odgovarajući broj aromatskih protona u području 9,40–7,87 ppm te nestanak signala koji su odgovarali protonima karboksilne skupine.



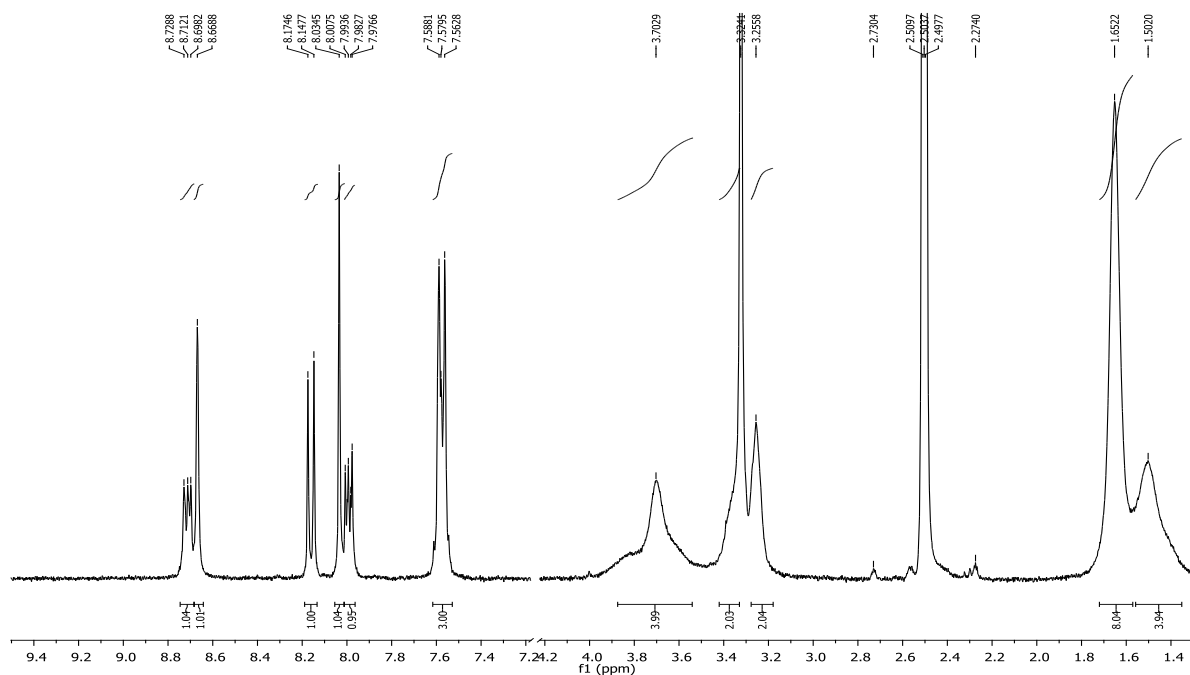
Slika 25. ^1H NMR spektar spoja **19**

Iz acilnog halogenida derivata **19** u reakciji s odgovarajućim aminima, priređeni su 2,6-disupstituirani derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2,6-dikarboksamida **20** (59%), **21** (24%) i **22** (22%) kako je prikazano na Shemi 27.²⁵



Shema 27. Sinteza spojeva **20**, **21** i **22**

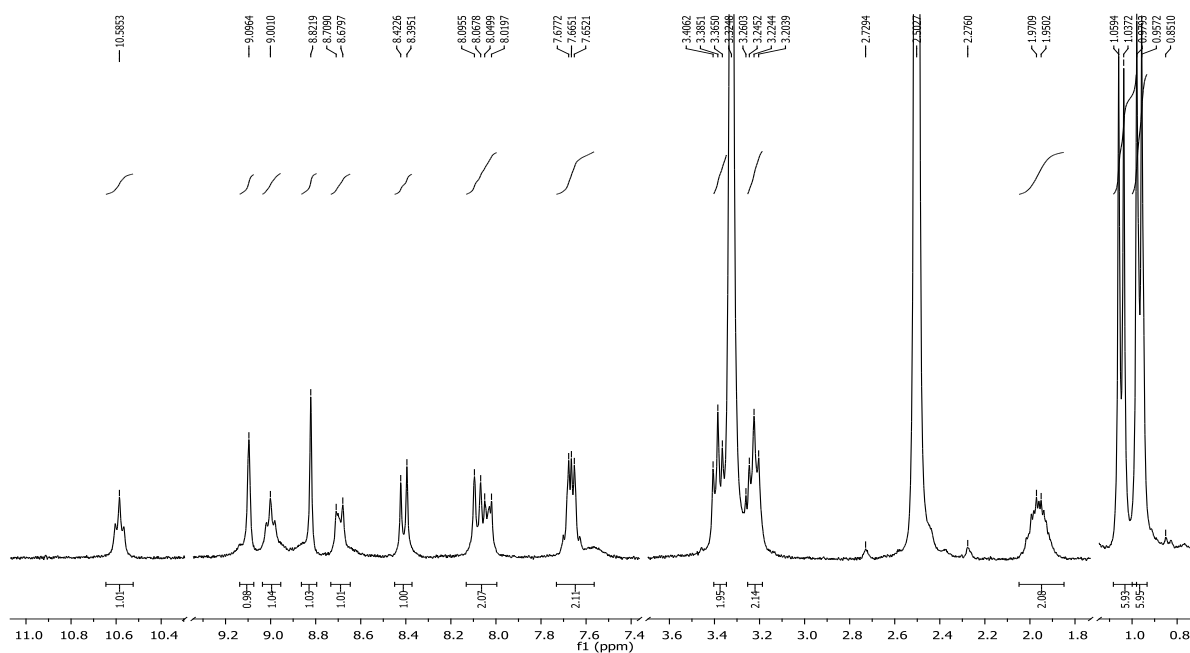
Na Slici 26. prikazan je ^1H NMR spektar spoja **20** na kojem se može uočiti odgovarajući broj signala u području 8,73–7,56 ppm koji odgovaraju signalima aromatskih protona, te signali alifatskih protona dviju piperidinskih jezgri karboksilne skupine u području 3,70–1,50 ppm.



Slika 26. ^1H NMR spektar spoja **20**

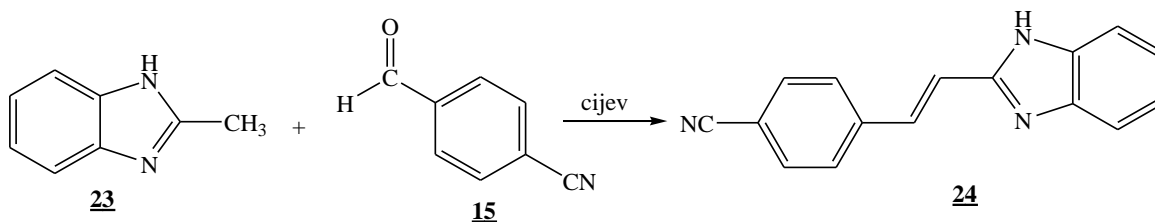
U ^1H NMR spektru spoja **21** (Slika 27.) se u području 9,09–7,65 ppm može uočiti odgovarajući broj signala aromatskih protona uz dva tripleta na ~10,58 ppm i 9,00 ppm koji odgovaraju signalima dušikovih protona amidne skupine dviju izobutilnih skupina.

U alifatskom dijelu spektra, u području 3,40–0,97 ppm uočava se odgovarajući broj signala koji odgovaraju protonima dviju izobutilnih skupina, pri čemu signali na 3,40 ppm i 3,22 ppm odgovaraju CH_2 skupinama, multiplet u području 1,97–1,95 ppm protonima CH skupina te signali na 1,05 ppm i 0,97 ppm protonima četiriju CH_3 skupina izobutilnih supstituenata.



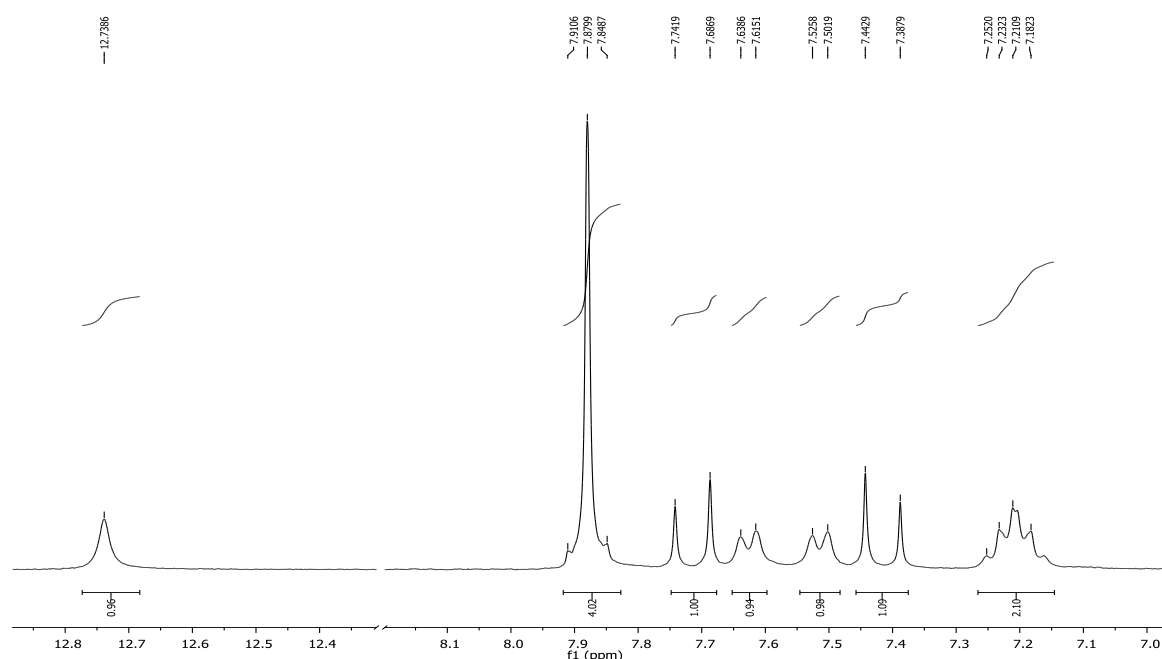
Slika 27. ^1H NMR spektar spoja **21**

Nadalje, za sintezu 2-karboksamido supstituiranih tetracikličkih derivata benzimidazola, **28** i **30**, prvotno je sintetiziran aciklički prekursor **24** reakcijom kondenzacije 2-metilbenzimidazola **23** s 4-cijanobenzaldehidom **15** uz zagrijavanje u cijevi na visokoj temperaturi. *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazol **24** dobiven je u iskorištenju od 71% te je njegova struktura potvrđena NMR spektroskopijom.⁵



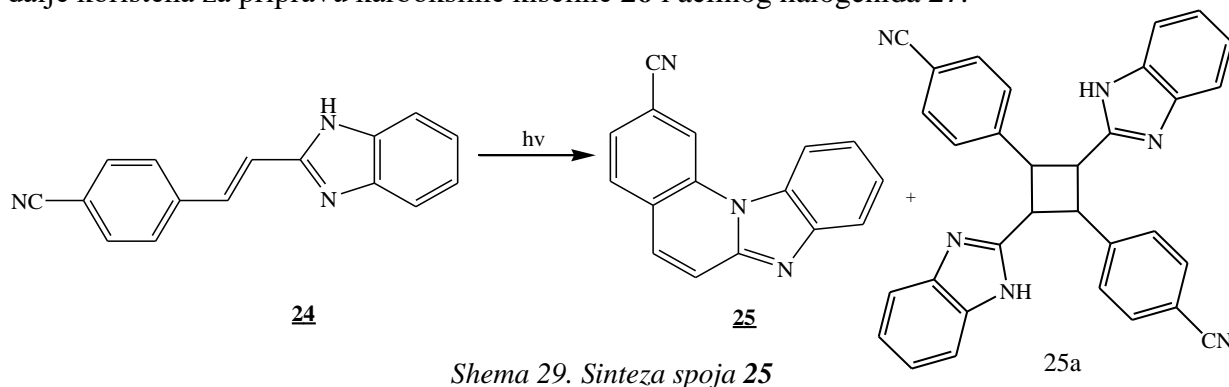
Shema 28. Priprava *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazola **24**

Na Slici 28 prikazan je ^1H NMR spektar spoja **24** u kojem singlet na $\sim 12,73$ ppm odgovara dušikovom protonu benzimidazolske jezgre, dubleti na $\sim 7,71$ ppm i $\sim 7,41$ ppm odgovaraju *trans* protonima etenilne skupine dok preostali pikovi u području 7,91–7,18 ppm odgovaraju aromatskim protonima.

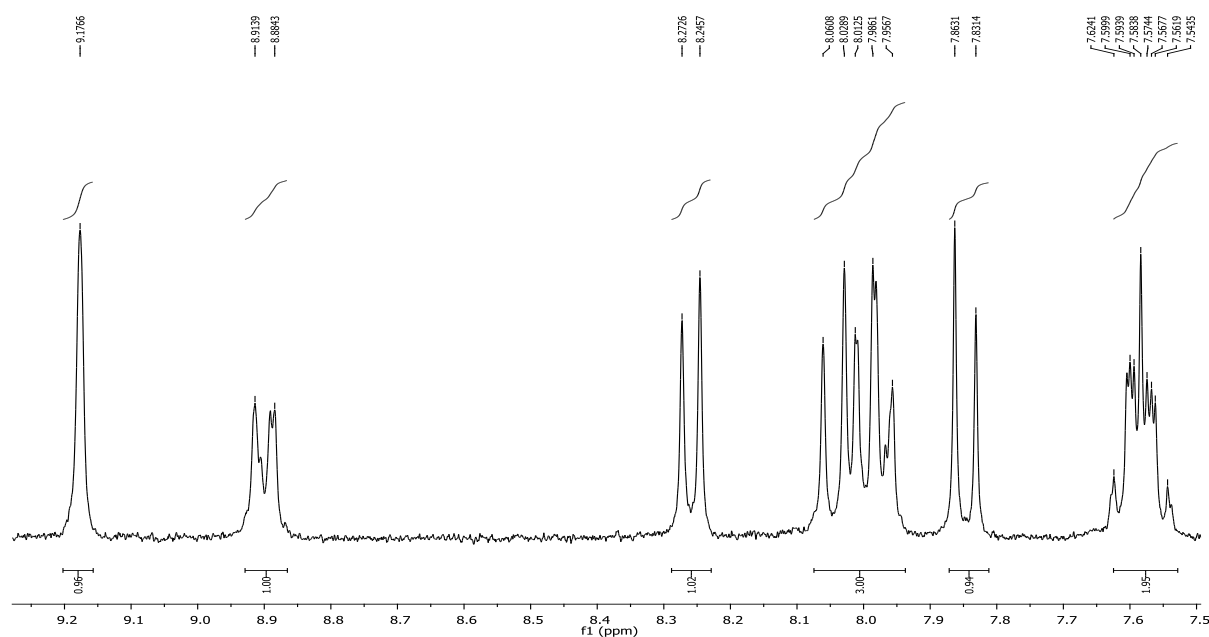


Slika 28. ^1H NMR spektar spoja **24**

U sljedećem koraku, reakcijom fotokemijskog dehidrohalogeniranja, provedena je ciklizacija spoja **24** u 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolin **25** prema Shemi 29. Reakcija je provedena osvjtljavanjem etanolne otopine spoja **24** UV visokotlačnom živinom lampom od 400 W, uz dodatak katalitičke količine joda, pri čemu je dobiven žuti praškasti produkt **25** u iskorištenju 31%. Tijek fotokemijske ciklizacije praćen je UV/Vis spektroskopijom. Reakcija je provedena više puta, a u jednom eksperimentu uz očekivani ciklički derivat **25**, nastao je i ciklobutanski derivat **25a** dobiven [2+2]cikloadicijom. Smjesa produkata nije razdvojena te je dalje korištena za pripravu karboksilne kiseline **26** i acilnog halogenida **27**.⁵

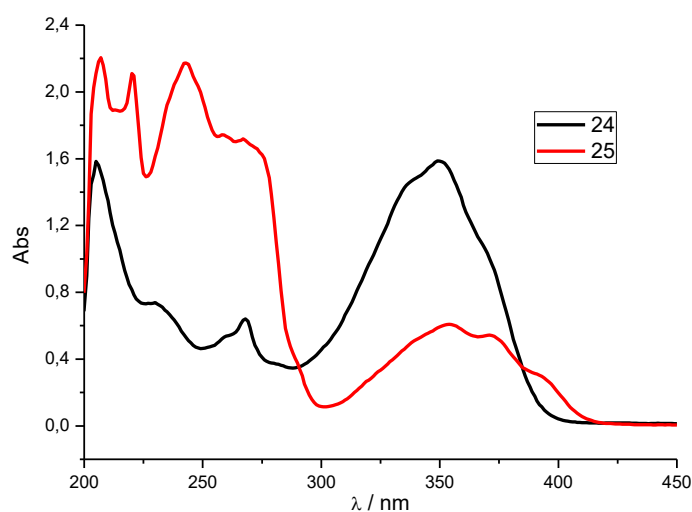


U ^1H HNM spektru prikazanom na Slici 29, može se uočiti odgovarajući broj signala aromatskih protona te nestanak signala NH skupine benzimidazolske jezgre.



Slika 29. ^1H NMR spektar spoja **25**

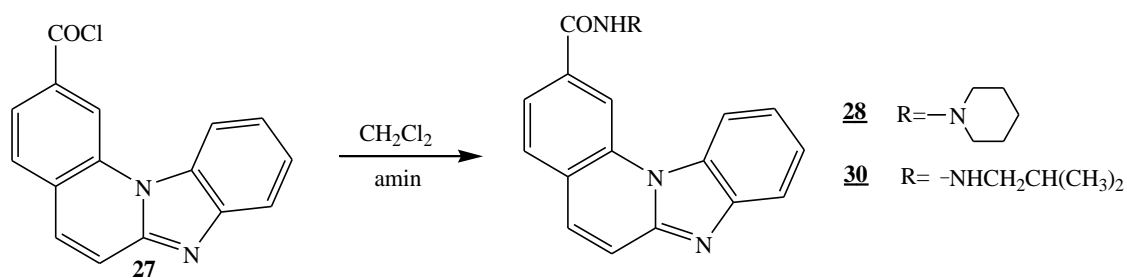
Na Slici 30 prikazan je kvalitativni UV/Vis spektar praćenja tijekom fotokemijske ciklizacije spoja **24** iz kojeg možemo uočiti da ciklizacijom dolazi do nastanka nekoliko novih maksimuma apsorpcije u području od 350 do 400 nm te oštrog pada intenziteta apsorpcije u području od 300 do 370 nm.



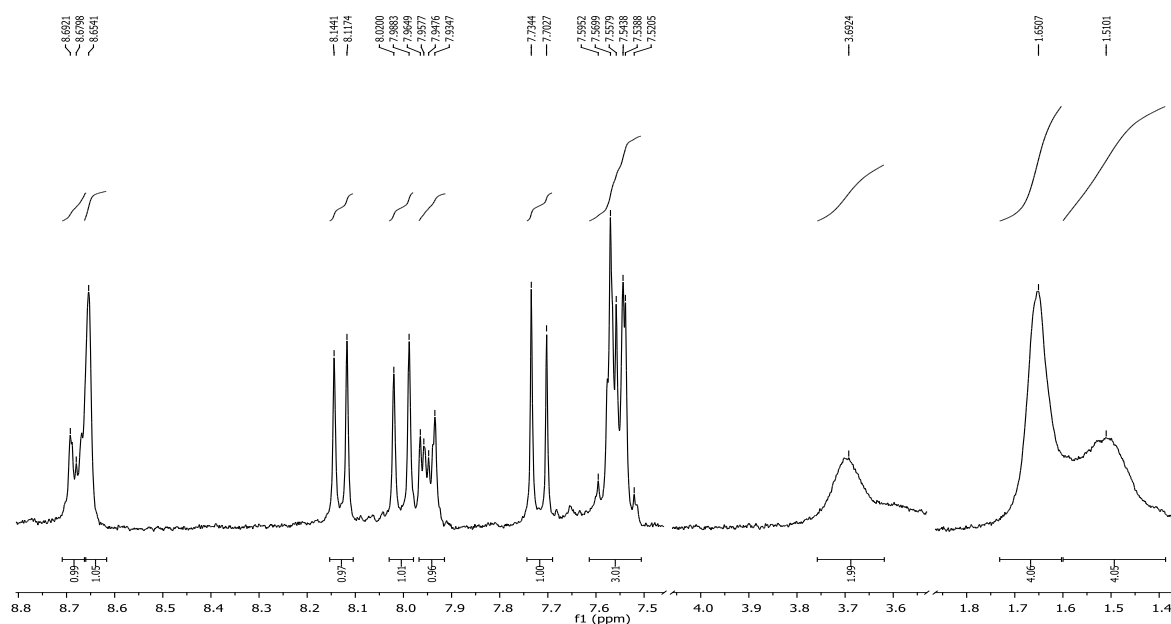
Slika 30. Kvalitativni UV/Vis spektar praćenja tijekom fotokemijske ciklizacije spoja **24**

N#Cc1ccc2c(c1)n3ccccc3nc2 (25) $\xrightarrow[\text{H}_2\text{O, H}_2\text{SO}_4]{24 \text{ h}}$ OC(=O)c1ccc2c(c1)n3ccccc3nc2 (26) $\xrightarrow{\text{SOCl}_2}$ ClC(=O)c1ccc2c(c1)n3ccccc3nc2 (27)

U zadnjem koraku sinteze ciljanih spojeva, provedena je reakcija spoja **27** s odgovarajućim aminima u diklormetanu pri čemu su dobivena dva amidna derivata, (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-il)(piperidin-1-il)metanon **28** i *N*-izobutil(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-2-karboksamid **30** u iskorištenjima 8% i 13%.²⁵

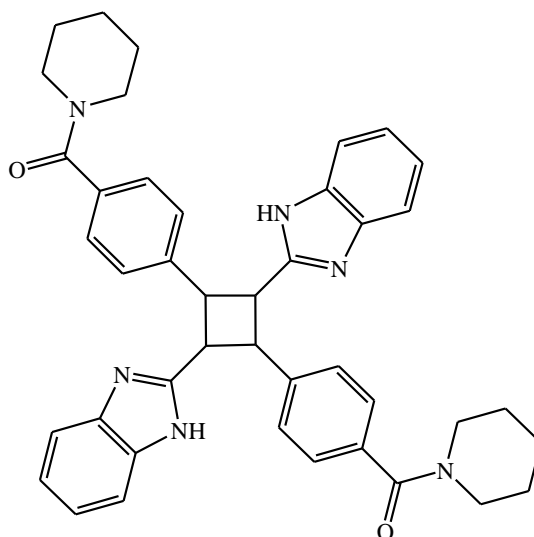


Na Slici 31, prikazan je ^1H NMR spektar spoja **28** gdje se u području 8,69–7,52 ppm može uočiti odgovarajući broj aromatskih protona benzimidazo-kinolinske jezgre te odgovarajući broj alifatskih protona piperidina u području 3,69–1,51 ppm.



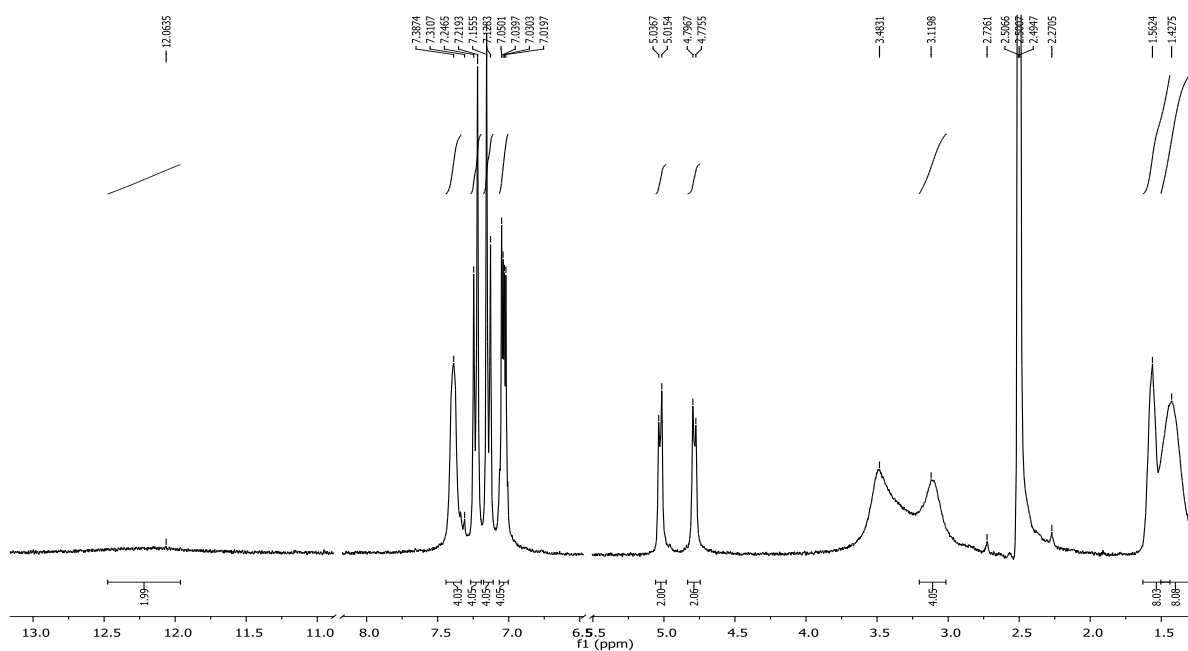
Slika 31. ^1H NMR spektar spoja **28**

Kako je za sintezu željenih amidnih derivata **28** i **30** korištena smjesa acilnog halogenida **27** i njegovog ciklobutanskog derivata, tijekom sinteze spoja **28** dobivena je smjesa produkata, koji su uspješno razdvojeni kolonskom kromatografijom na silikagelu uz $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ kao eluensu pri čemu je izoliran i amido supstituirani ciklobutanski derivat **29**.²⁷



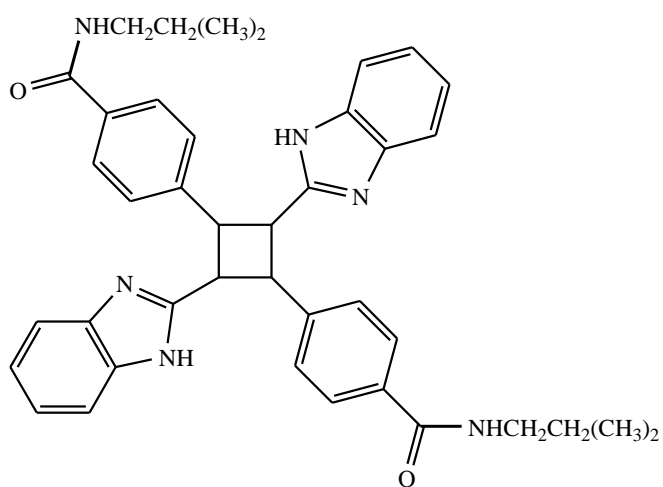
Slika 32. Struktura spoja **29**

Slika 33, prikazuje ^1H NMR spektar spoja **29** u kojem pik na 12,05 ppm odgovara dvama dušikovim protonima benzimidazolskih jezgri, pikovi u području 7,39–7,02 ppm odgovaraju aromatskim protonima benzimidazolskih i fenilnih supstituenata, dok signali u području 5,03–1,43 ppm odgovaraju alifatskim protonima ciklobutanskog prstena i dviju piperidinskih skupina.



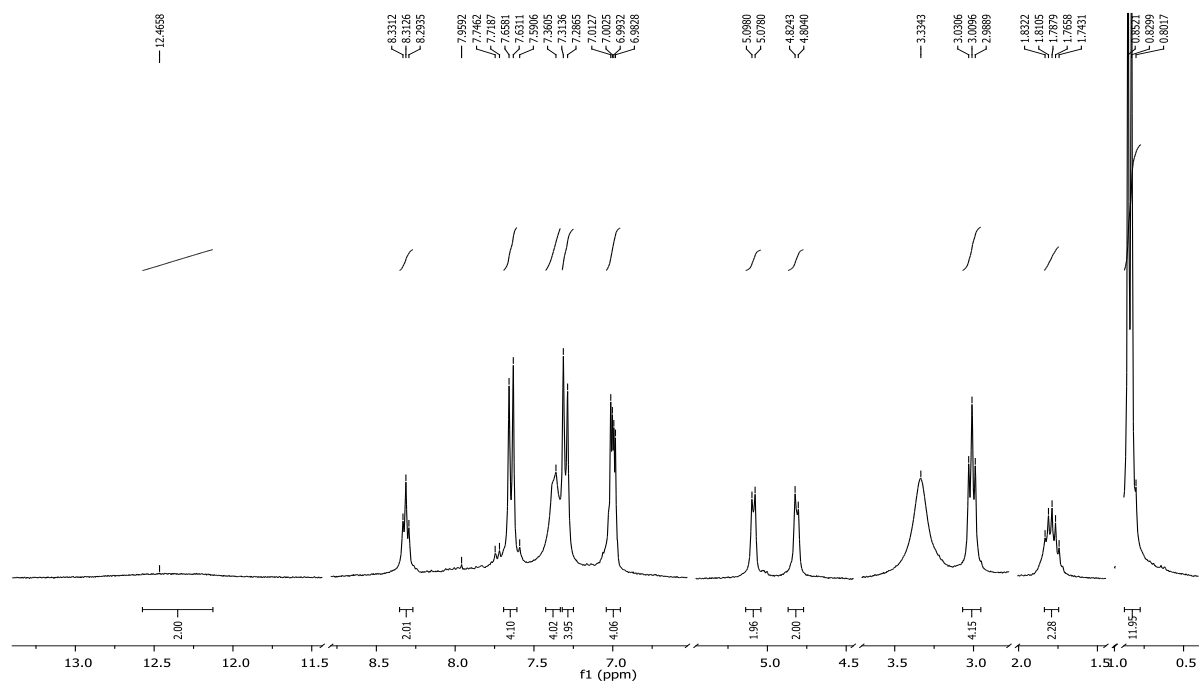
Slika 33. ^1H NMR spektar spoja **29**

Tijekom sinteze spoja **30**, zbog gore navedenog razloga, kao sporedni produkt nastaje i 1,3-di-(2-benzimidazolil)-2,4-di-[(4-isobutylkarboksamido)fenil]ciklobutan **31** u iskorištenju 40%.²⁷



Slika 34. Struktura spoja **31**

Struktura spoja **31** potvrđena je ^1H NMR spektrom prikazanim na Slici 35.



Slika 35. ^1H NMR spektar spoja **31**

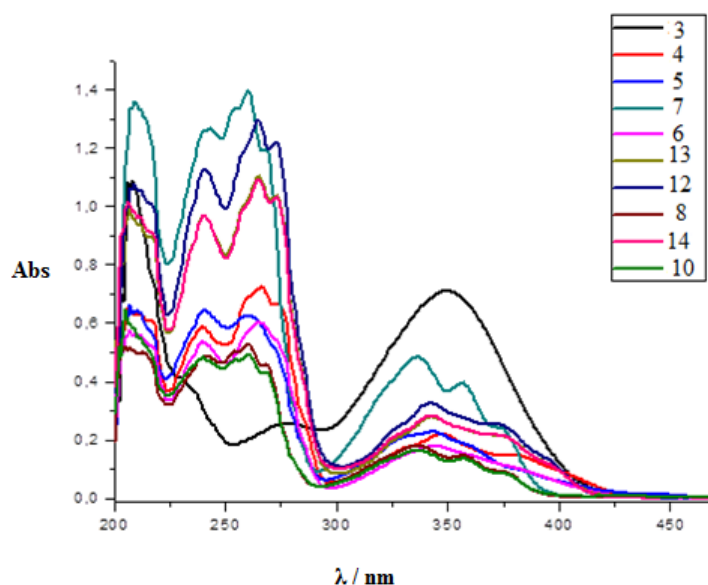
Signali protona na 12,47 ppm odgovaraju dvama dušikovim protonima benzimidazolskih jezgri dok triplet na ~8,31 ppm odgovara dušikovim protonima izobutilnih supstituenata. Signali u području 7,96–7,00 ppm odgovaraju aromatskim protonima benzimidazolskih i fenilnih supstituenata, dok signali u području 5,08–0,80 ppm odgovaraju alifatskim protonima ciklobutana i dviju izobutilnih skupina.

3.3. Spektroskopska karakterizacija priređenih spojeva

Svim priređenim spojevima ispitane su spektroskopske karakteristike korištenjem UV/Vis i fluorimetrijske spektroskopije. Matične otopine spojeva priređene su u metanolu pri koncentracijama $3,34 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $3,41 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ i $2,13 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$. Apsorpcijske vrpce u području od 200 do 325 nm rezultat su elektronskih $\pi-\pi^*$ prijelaza, a apsorpcijske vrpce u području od 325 do 500 nm rezultat su elektronskih $n-\pi^*$ prijelaza.

3.3.1. UV/Vis spektroskopija

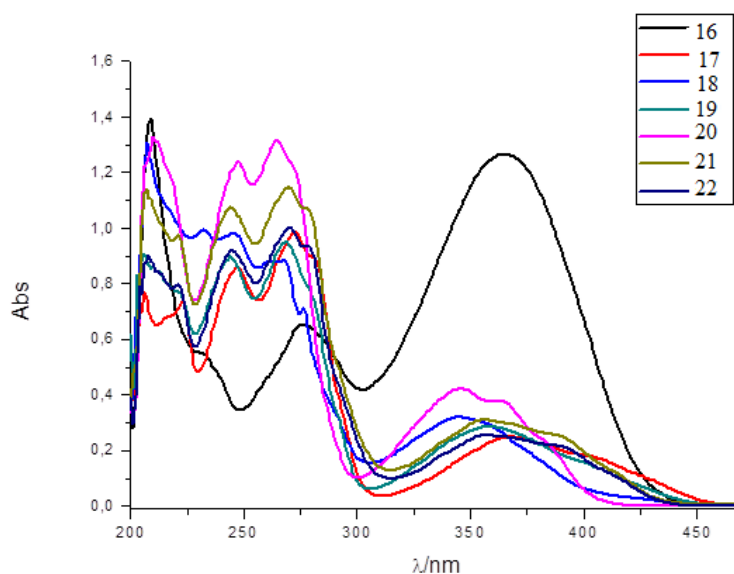
Spojevima **7**, **20** i **28** UV/Vis spektri snimljeni su pri istoj koncentraciji $c = 5 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$. Na Slici 36 prikazani su usporedni kvalitativni apsorpcijski spektri 6-karboksamido supstituiranih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **7**, **8** **10–14** i njihovih prekursora **3–6**.²⁸



Slika 36. Kvalitativni apsorpcijski spektri spojeva **3–14** u metanolu

Usporedbom spektara spojeva **3–14** prikazanih na Slici 36 može se uočiti značajan hipsokromni pomak maksimuma apsorbancije spojeva **5**, **7**, **13** i **14** u području nižih valnih duljina (200–300 nm), u odnosu na maksimum apsorbancije početnog acikličkog spoja **3**. Spojevi **4**, **7**, **10**, **12**, **13** i **14** pokazuju batokromni pomak maksimuma apsorbancije u odnosu na početni spoj **3** iznad 350 nm. Najizraženiji batokromni pomak pokazuje *N*-izobutil(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-6-karboksamid **12**.

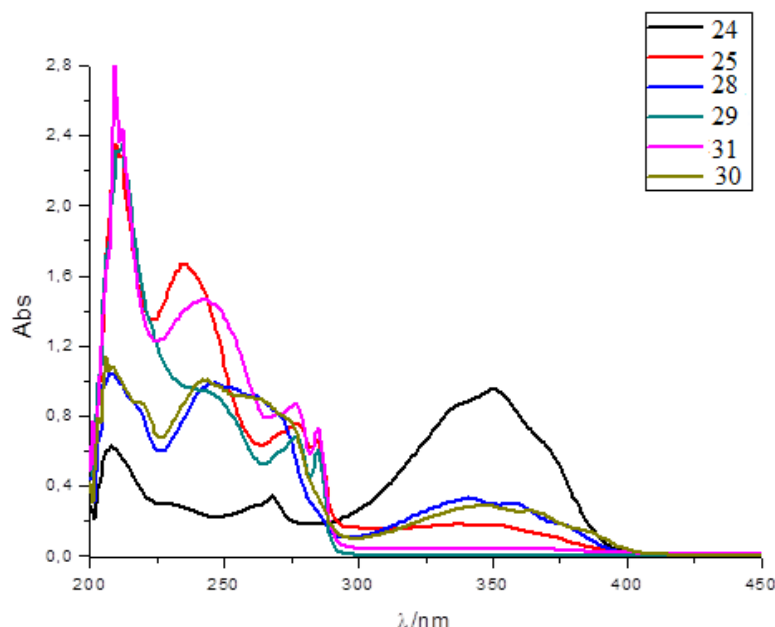
Na Slici 37 prikazani su usporedni kvalitativni apsorpcijski spektri 2,6-dikarboksiamido supstituiranih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **20-22** i njihovih prekursora **16-19**.



Slika 37. Kvalitativni apsorpcijski spektri spojeva **16-22** u metanolu

Spojevi **17**, **19**, **20**, **21** i **22** pokazuju blagi batokromni pomak maksimuma apsorbancije u odnosu na aciklički spoj **16** i benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2,6-dikarboksilnu kiselinu **18**. Spoj **16** pokazuje hipsokromni pomak maksimuma apsorbancije u odnosu na derivate **17**, **19**, **20**, **21** i **22**. Benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2,6dikarboksilna kiselina **18** pokazuje hipsokromni pomak maksimuma apsorbancije u odnosu na sve derivate. Najizraženiji batokromni pomak prisutan je kod spoja s *N*-izobutilnim supstituentima **21**.

Kvalitativni usporedni spektri derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina-2-karboksamida **28-31** i njihovih acikličkih i cikličkih prekursora **24** i **25** snimljeni u metanolu prikazani su na Slici 38.

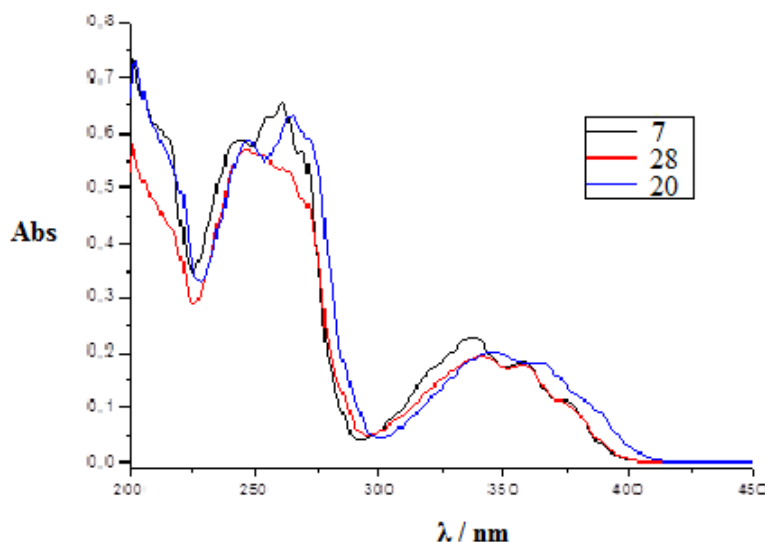


Slika 38. Kvalitativni apsorpcijski spektri spojeva **24–31** u metanolu

Spojevi **28** i **30** pokazuju slične valne duljine maksimuma apsorbancije, bez značajnog utjecaja odgovarajućih supstituenata. Spojevi [4-[2,4(bis(1H-benzimidazol-2-il)-3-[4-(piperidin-1-karbonil)fenil]ciklobutil]fenil]-(piperidin-1-il)metanon **29** i 1,3-di-(2-benzimidazolil)-2,4-di-[(4-isobutylkarboksamido)fenil] ciklobutan **31**, nastali kao sporedni produkti tijekom sinteze derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina, imaju zanemarivu apsorbanciju iznad 300 nm.

Na Slici 39 prikazani su usporedni kvantitativni spektri spojeva s *N*-piperidinilnim supstituentom **7**, **20** i **28** pri koncentraciji $5 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$ u metanolu. Spoj **7**, (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(piperidin-1-il)metanon, pokazuje hipsokromni i hiperkromni pomak maksimuma apsorbancije u području valnih duljina iznad 300 nm te u području od 225 – 265 nm u odnosu na derivate **20** i **28** sa supstituiranim piperidinskim jezgrama na položajima 2,6- i 2- benzimidazo-kinolinske jezgre.

Najizraženiji batokromni pomak prisutan je kod 2,6-dikarboksamido derivata **20** koji u području od 270 – 290 nm pokazuje blagi hiperkromni pomak intenziteta apsorbancije u odnosu na derivate **7** i **28**, dok u području 300 – 340 nm pokazuje slabi batokromni pomak u odnosu na druga dva derivata.

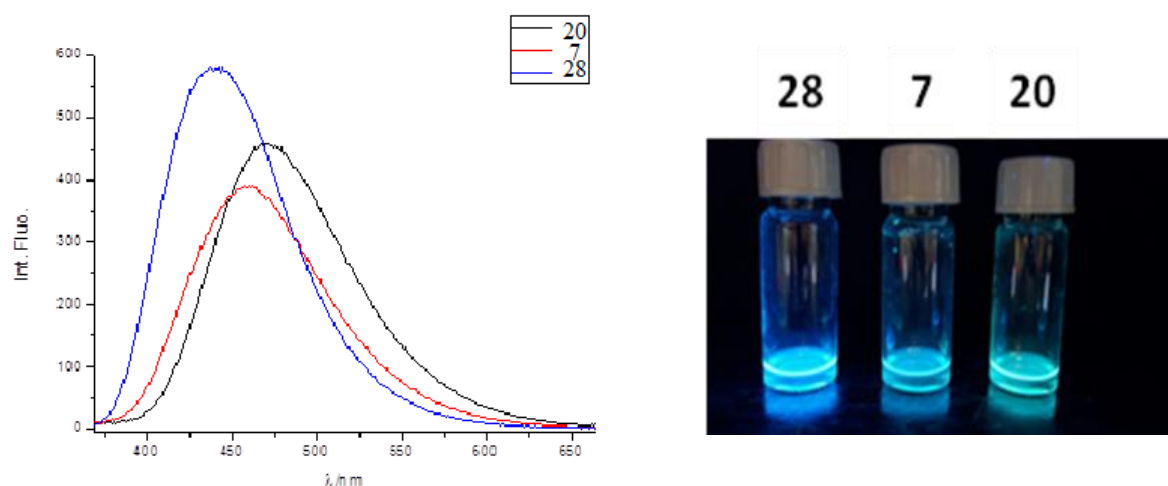


Slika 39. Kvantitativni apsorpcijski spektar *N*-piperidinil supstituiranih derivata benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **7**, **20** i **28**

3.3.2. Fluorimetrijska spektroskopija

Zbog visoke osjetljivosti ove metode, fluorimetrijska spektroskopska ispitivanja mogu se provoditi pri manjim koncentracijama. Fluorimetrijski emisijski spektri snimani su za tri spoja, (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(piperidin-1-il)metanon **7**, [6-(piperidin-1-karbonil)-benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-il]-(piperidin-1-il)metanon **20** i (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-il)(piperidin-1-il)metanon **28**, pri koncentraciji od 5×10^{-8} mol dm⁻³ i 1×10^{-7} mol dm⁻³.²⁹

Emisijski spektri spojeva **7**, **20** i **28**, snimani su i pri koncentraciji od 5×10^{-8} mol dm⁻³ te su prikazani na Slici 40. Spoj **28** pokazuje maksimum emisije na ~440 nm s najvećim intenzitetom fluorescencije. Spoj **28** pokazuje hipsokromni pomak maksimuma emisije te hiperkromni pomak intenziteta fluorescencije u usporedbi sa spojevima **7** i **20**. Spoj **20** u odnosu na spoj **7** pokazuje blagi batokromni pomak maksimumam emisije te hiperkromni pomak intenziteta fluorescencije.



Slika 40. Emisijski spektri spojeva **7**, **20** i **28** snimani u metanolu pri koncentraciji $5 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$

U Tablici 9 prikazani su rezultati i spektroskopske karakteristike dobivene UV/Vis i fluorimetrijskim ispitivanjima spojeva **7**, **20** i **28**.³⁰

Tablica 9. UV/Vis i fluorimetrijski podaci spojeva **7**, **20** i **28** u metanolu

Spoj	$\lambda_{\text{max}} / \text{nm}$	$\epsilon / \text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	$\lambda_{\text{emis}} / \text{nm}$	I (a.u.)
7	375	55160	458	390
	357	92155		
	337	113295		
	261	328230		
	244	293875		
20	366	89515	472	456
	346	101845		
	265	315015		
	248	292115		
28	375	51635	439	580
	358	85990		
	339	96560		
	261	268330		
	246	285065		

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na spektrometrima Bruker AV600 i Bruker AV600. ^1H NMR spektri snimani su pri 300 i 600 MHz, dok su ^{13}C NMR spektri snimani pri 75 i 150 MHz. Svi NMR spektri snimani su u DMSO- d_6 kao otapalu, koristeći tetrametilsilan kao interni standard. Kemijski pomaci (δ) izraženi su u ppm vrijednostima, a konstante sprege (J) u Hz.

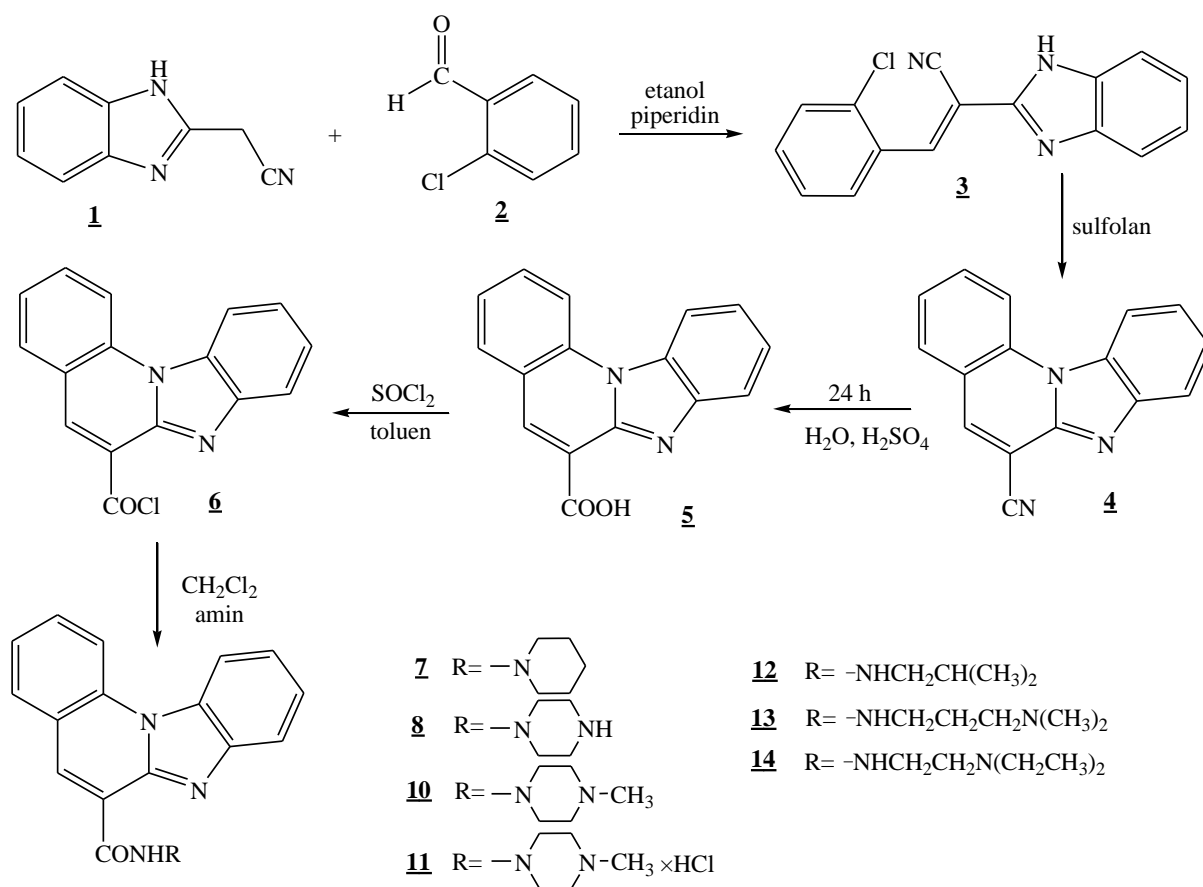
Tališta priređenih spojeva određena su na SMP11 Bibby i Büchi 535 aparatu te nisu korigirana.

UV/Vis spektri snimljeni su na Varian Cary 50 spektrofotometru. Fluorescencijski emisijski spektri snimljeni su na Cary Eclipse spektrofotometru. U oba slučaja korištene su kvarcne kivete promjera 0,5 cm te volumena 3 cm³.

Kromatografska odjeljivanja provedena su na kolonama punjenim silikagelom 0,063–0,2 nm (Kemika, Merck).

Fotokemijske reakcije provedene su u reaktoru s unutarnjim osvjetljavanjem (imerzijski reaktor) kod kojeg je izvor svjetla uronjen u reakcijsku otopinu, a sastoji se od imerzijskog dijela, koji se uranja u reakcijsku smjesu i reakcijske posude. Izrađen je od pyrexa, a između njegovih dvostrukih stijenki cirkulira rashladna voda. Kao izvor svjetlosti korištena je visokotlačna živina lampa od 400 W.

4.2. Sinteza derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina-6-karboksamida



Shema 32. Sinteza derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina-6-karboksamida

4.2.1. Priprava 2-(2-benzimidazolil)-3-(2-klorfenil)akrilonitrila 3

U okruglu tikvicu stavi se 2,000 g (12,74 mmol) 2-cijanometilbenzimidazola **1** i 1,790 g (12,74 mmol) 2-klorbenzaldehida **2**, te se uz dodatak par kapi piperidina otopina refluksira u apsolutnom etanolu 2 h. Nakon hlađenja reakcijske smjese nastali talog se profiltrira i prekrizalizira iz etanola. Dobiveno je 3,380 g (95%) žuto-smeđeg kristaliničnog produkta.

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ = 13,33 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{benzimid.}}$), 8,52 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,14 (dd, 1H, $J_1=2,34$ Hz, $J_2=6,84$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,72 (šs, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,70 (dd, 1H, $J_1=1,74$ Hz, $J_2=7,50$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,64–7,55 (m, 3H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,30 (šs, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ =176,27, 147,10, 141,84, 134,28, 133,15, 131,70, 130,51, 130,21, 128,24, 115,82, 107,23.

4.2.2. Priprava 6-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina 4

Spoj **4** priređen je zagrijavanjem otopine spoja **3** (3,000 g, 10,74 mmol) u sulfolanu (8 ml) 0,5 h na 280 °C. Ohlađenoj smjesi doda se voda, dobiveni talog se profiltrira i prekrizalizira iz 550 ml etanola. Dobiveno je 1,682 g (64%) smeđeg praškastog produkta. T.t. 256–258 °C

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 8,77 (d, 1H, $J=8,640$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,74 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,66 (d, 1H, $J=8,10$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,06 (d, 1H, $J=7,44$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,95 (d, 1H, $J=8,00$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,93 (t, 1H, $J=8,10$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,59 (t, 1H, $J=7,44$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,55–7,51 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ =144,44, 143,74, 140,67, 135,80, 133,65, 131,21, 125,19, 123,64, 121,20, 120,26, 115,97, 115,38, 114,86.

4.2.3. Priprava benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karboksilne kiseline 5

U okruglu tikvicu stavi se 2,000 g (8,22 mmol) 6-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina **4** i doda se smjesa 4,9 ml sumporne kiseline i 6,9 ml vode. Reakcijska smjesa refluksira 20 h. Ohlađena reakcijska smjesa se izlije na led, nastali talog se profiltrira i prekrizalizira iz DMF-a. Dobiveno je 1,466 g (68%) žutog praškastog produkta.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 9,23 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 9,14 (d, 1H, $J=8,61$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 9,04 (d, 1H, $J=8,13$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,53 (d, 1H, $J=7,38$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,23–8,16 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,89 (t, 1H, $J=\text{Hz}$, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,84–7,74 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ =164,70 (2C), 135,48 (2C), 135,29, 132,92 (2C), 129,26, 127,87, 127,36, 125,85, 123,08 (2C), 117,36, 117,29, 116,60.

4.2.4. Priprava benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonilklorida **6**

Reakcijska smjesa 0,500 g (1,91 mmol) spoja **5**, 20 ml suhog toluena i 2,7 ml SOCl₂ refluksira se 19 h pri 110 °C. Po završetku reakcije reakcijska smjesa se upari pod sniženim tlakom do suha, uz ispiranje toluenom nekoliko puta. Dobiveno je 0,530 g (99%) žutog praškastog produkta. T.t. 242–245 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ=9,40 (s, 1H, H_{arom.}), 9,23 (d, 1H, *J*=8,67 Hz, H_{arom.}), 9,13 (d, 1H, *J*=8,22 Hz, H_{arom.}), 8,60 (dd, 1H, *J*₁=1,02 Hz, *J*₂=7,89 Hz, H_{arom.}), 8,29–8,22 (m, 2H, H_{arom.}), 7,96 (t, 1H, *J*=7,58 Hz, H_{arom.}), 7,90 (t, 1H, *J*=7,92 Hz, H_{arom.}), 7,84 (t, 1H, *J*=7,13 Hz, H_{arom.}); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ=164,66, 143,12, 142,09, 135,99, 135,15, 133,13, 132,61, 128,71, 128,67, 127,97, 126,61, 123,41, 117,92, 117,08, 116,19, 114,31.

4.2.5. Priprava (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(piperidin-1-il)metanona **7**

U okruglu tikvicu stavi se 0,200 g (0,71 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonilklorida **6**, doda se 20 ml suhog diklormetana te 0,21 ml piperidina. Reakcijska smjesa miješa se na sobnoj temperaturi 2 h. Reakcijska smjesa se zatim ispere s 10 ml 20% Na₂CO₃ i s 10 ml vode. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO₄. Nastali produkt je pročišćen kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂/CH₃OH kao eluens, pri čemu je dobiveno 0,079 g (34%) svijetložutog praškastog produkta. T.t. 213–215 °C

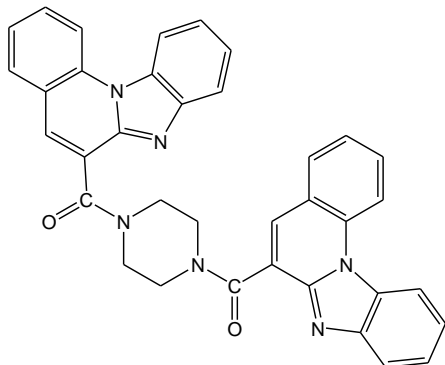
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ=8,85 (d, 1H, *J*=8,49 Hz, H_{arom.}), 8,80–8,71 (m, 1H, H_{arom.}), 8,11 (dd, 1H, *J*₁=1,17 Hz, *J*₂=7,83 Hz, H_{arom.}), 8,00 (s, 1H, H_{arom.}), 7,99–7,96 (m, 1H, H_{arom.}), 7,89 (dt, 1H, *J*₁=7,88 Hz, *J*₂=1,38 Hz, H_{arom.}), 7,61 (t, 1H, *J*=7,50 Hz, H_{arom.}), 7,57–7,54 (m, 2H, H_{arom.}), 3,73 (šs, 2H, CH₂), 3,25 (šs, 2H, CH₂), 1,64 (šs, 4H, CH₂), 1,46 (šs, 2H, CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ=164,48, 145,43, 144,76, 135,33, 131,33, 130,95, 130,57, 129,23, 127,04, 125,14, 125,00, 123,52, 122,76, 120,66, 116,18, 115,32, 48,07, 42,45, 26,54, 25,77, 24,44.

4.2.6. Priprava (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(piperazin-1-il)metanona **8**

U okruglu tikvicu stavi se 0,150 g (0,53 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonilklorida **6**, doda se 20 ml suhog diklormetana te 0,138 g piperazina. Reakcijska smjesa miješa se na sobnoj temperaturi 2 h. Nastali bijeli talog se profiltrira (**9**, m=0,075 g, 24%), a filtrat se ispere s 10 ml 20% Na₂CO₃ i s 10 ml vode. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO₄. Dobiveno je 0,012 g (7%) žutog praškastog produkta **8**. T.t. > 300 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ=8,84 (d, 1H, *J*=8,55 Hz, H_{arom.}), 8,79–8,72 (m, 1H, H_{arom.}), 8,11 (d, 1H, *J*=7,80 Hz, H_{arom.}), 8,02 (s, 1H, H_{arom.}), 8,00–7,95 (m, 1H, H_{arom.}), 7,89 (t,

^1H , $J=7,25$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,62 (t, 1H, $J=7,55$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,59–7,52 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 3,71 (šs, 2H, CH_2), 3,22 (t, 2H, $J=4,75$ Hz, CH_2), 2,85 (šs, 2H, CH_2), 2,64 (šs, 2H, CH_2); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta=164,20, 144,75, 144,18, 134,72, 130,88, 130,41, 130,13, 129,08, 126,12, 124,63, 124,51, 122,98, 122,25, 120,09, 115,54, 114,67, 47,93, 45,78, 45,29, 42,48$.



9: [4-(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonil)piperazin-1-il]-(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)metanon

T.t. >300 °C

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta=8,90$ (d, 1H, $J=8,16$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,82–8,75 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,67 (d, 1H, $J=7,46$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,19–8,03 (m, 5H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,00–7,90 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,83 (t, 1H, $J=7,50$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,69–7,45 (m, 6H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 3,98 (šs, 2H, CH_2), 3,80 (šs, 2H, CH_2), 3,53 (šs, 2H, CH_2), 3,25 (šs, 2H, CH_2); ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): spoj nije dovoljno topljiv.

4.2.7. Priprava (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(4-*N*-metilpiperazin-1-il)metanona 10

U okruglu tikvicu stavi se 0,150 g (0,53 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonilklorida **6**, doda se 20 ml suhog diklormetana te 0,060 ml *N*-metilpiperazina. Reakcijska smjesa miješa se na sobnoj temperaturi 2 h. Nastali bijeli talog se profiltrira (**11**, $m=0,148$ g, 73%), a filtrat se ispere s 10 ml 20% Na_2CO_3 i s 10 ml vode. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO_4 . Dobiveno je 0,024 g (13%) žutog praškastog produkta (**10**).

10: T.t. 232–235 °C

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta=8,85$ (d, 1H, $J=8,46$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,80–8,70 (m, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,12 (d, 1H, $J=7,83$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,02 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,00–7,97 (m, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,90 (t, 1H, $J=7,88$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,62 (t, 1H, $J=7,41$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,58–7,52 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 3,76 (šs, 2H, CH_2), 3,29 (t, 2H, $J=9,48$ Hz, CH_2), 2,42 (šs, 2H, CH_2), 2,27 (šs, 2H, CH_2), 2,21 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta=164,80, 145,33, 144,63, 135,33, 131,33, 130,90, 130,72, 129,77, 126,55, 125,08, 125,01, 123,50, 122,73, 120,62, 116,06, 115,17, 55,22, 54,69, 47,02, 46,13, 41,71$.

11: (Benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(4-*N*-metilpiperazin-1-il)metanon hidroklorid

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ=11,54 (šs, 1H, NH⁺), 9,00 (d, 1H, *J*=8,58 Hz, H_{arom.}), 8,91 (d, 1H, *J*=7,44 Hz, H_{arom.}), 8,38 (s, 1H, H_{arom.}), 8,23 (d, 1H, *J*=6,87 Hz, H_{arom.}), 8,09–8,00 (m, 2H, H_{arom.}), 7,53 (t, 1H, *J*=7,48 Hz, H_{arom.}), 7,71–7,64 (m, 2H, H_{arom.}), 3,55 (šs, 4H, CH₂), 3,27 (šs, 4H, CH₂), 2,81 (d, 3H, *J*=2,79 Hz, H_{arom.}).

4.2.8. Priprava *N*-izobutil(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-6-karboksamida 12

U okruglu tikvicu stavi se 0,150 g (0,53 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonilklorida **6**, doda se 20 ml suhog diklormetana te 0,160 ml izobutilamina. Reakcijska smjesa miješa se na sobnoj temperaturi 2 h. Reakcijska smjesa se ispere s 10 ml 20% Na₂CO₃ i s 10 ml vode. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO₄. Dobiveno je 0,118 g (70%) žutog praškastog produkta. T.t. 152–155 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ=10,60 (t, 1H, *J*=5,60 Hz, NH), 8,88 (d, 1H, *J*=8,52 Hz, H_{arom.}), 8,78 (s, 1H, H_{arom.}), 8,77 (d, 1H, *J*=7,46 Hz, H_{arom.}), 8,31 (dd, 1H, *J*₁=0,96 Hz, *J*₂=7,77 Hz, H_{arom.}), 8,03–7,92 (m, 2H, H_{arom.}), 7,66 (t, 1H, *J*=7,56 Hz, H_{arom.}), 7,63–7,54 (m, 2H, H_{arom.}), 3,38 (t, 2H, *J*=6,29 Hz, CH₂), 2,04–1,90 (m, 1H, CH), 1,05 (d, 6H, *J*=6,69 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ=162,41, 146,47, 143,11, 135,84, 135,47, 132,82, 132,05, 130,44, 125,60, 125,49, 123,86, 122,38, 120,38, 120,19, 116,13, 115,42, 46,99, 28,68, 20,67 (2C).

4.2.9. Priprava *N,N*-dimetilaminopropil(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-6-karboksamida 13

U okruglu tikvicu stavi se 0,150 g (0,53 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonilklorida **6**, doda se 20 ml suhog diklormetana te 0,200 ml *N,N*-dimetilaminopropil-1-amina. Reakcijska smjesa miješa se na sobnoj temperaturi 2 h. Nastali bijeli talog se profiltrira, a filtrat se ispere s 10 ml 20% Na₂CO₃ i s 10 ml vode. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO₄. Dobiveno je 0,134 g (72%) žutog uljastog produkta.

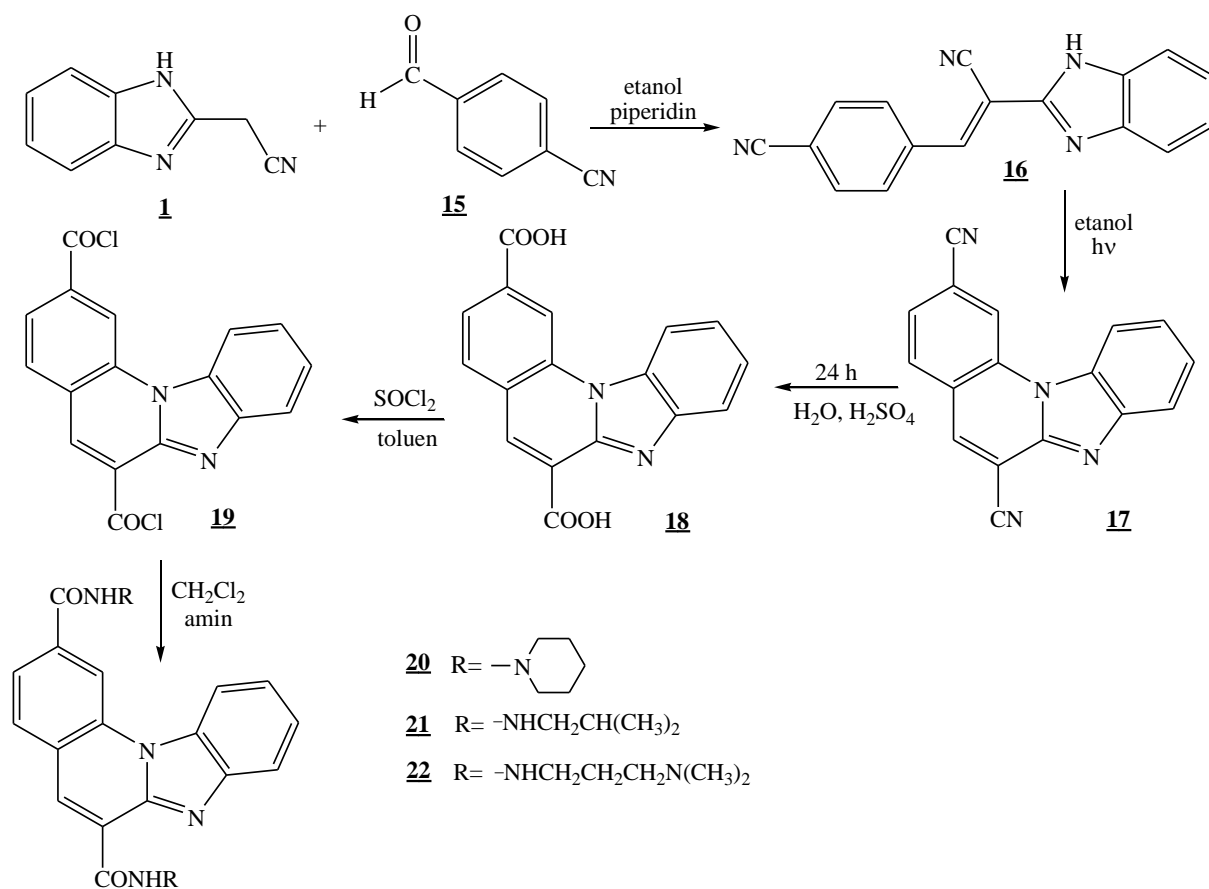
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ=10,56 (t, 1H, *J*=5,58 Hz, NH), 8,89 (d, 1H, *J*=8,55 Hz, H_{arom.}), 8,82–8,78 (m, 2H, H_{arom.}), 8,31 (dd, 1H, *J*₁=1,17 Hz, *J*₂=7,83 Hz, H_{arom.}), 8,04–7,93 (m, 2H, H_{arom.}), 7,66 (t, 2H, *J*=7,50 Hz, H_{arom.}), 7,64–7,56 (m, 2H, H_{arom.}), 3,59–3,50 (m, 2H, CH₂), 2,43 (t, 2H, *J*=6,95 Hz, CH₂), 2,23 (s, 6H, CH₃), 1,86–1,73 (m, 2H, CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ=162,46, 146,31, 143,31, 135,93, 135,48, 132,78, 132,10, 130,45, 125,56 (2C), 123,90, 122,33, 120,45, 120,07, 116,16, 115,48 (2C), 57,07, 45,65 (2C), 37,75, 27,20.

4.2.10. Priprava *N,N*-dietilaminoetil(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-6-karboksamida **14**

U okruglu tikvicu stavi se 0,100 g (0,36 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonilklorida **6**, doda se 20 ml suhog diklormetana te 0,150 ml *N,N*-dietiletilendiamina. Reakcijska smjesa miješa se na sobnoj temperaturi 2 h. Reakcijska smjesa se potom ispere s 10 ml 20% Na₂CO₃ i s 10 ml vode. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO₄. Dobiveno je 0,064 g (50%) žutog praškastog produkta. T.t. 127–130 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ=10,67 (t, 1H, *J*=4,86 Hz, NH), 8,90 (d, 1H, *J*=8,61 Hz, H_{arom}), 8,80 (s, 1H, H_{arom}), 8,79 (d, 1H, *J*=7,47 Hz, H_{arom}), 8,31 (d, 1H, *J*=6,87 Hz, H_{arom}), 8,00–7,93 (m, 2H, H_{arom}), 7,66 (t, 2H, *J*=7,41 Hz, H_{arom}), 7,61–7,55 (m, 1H, H_{arom}), 3,59–3,51 (m, 2H, CH₂), 2,69 (t, 2H, *J*=6,17 Hz, CH₂), 2,65–2,56 (m, 4H, CH₂), 1,07 (t, 6H, *J*=7,08 Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ=162,43, 146,30, 143,33, 135,88, 135,47, 132,82, 132,00, 130,67, 125,57 (2C), 123,94, 122,41, 120,47, 120,06, 116,07 (2C), 115,46, 51,83 (2C), 47,00 (2C), 12,60.

4.3. Sinteza derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina-2,6-dikarboksamida



Shema 33. Sinteza derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina-2,6-dikarboksamida

4.3.1. Priprava 2-(2-benzimidazolil)-3-(4-cijanofenil)akrilonitrila **16**

U okruglu tikvicu stavi se 2,000 g (12,74 mmol) 2-cijanometilbenzimidazola **1** i 1,670 g (12,74 mmol) 4-cijanobenzaldehida **15** te se doda 15 ml apsolutnog etanola i par kapi piperidina. Reakcijska smjesa zagrijava se na temperaturi vrenja 2 h. Po završetku reakcije otopina se filtrira pri čemu je dobiveno 2,873 g (84%) smeđe-žutog praškastog produkta. T.t. 290–291 °C

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 13,21 (s, 1H, $\text{H}_{\text{benzimid.}}$), 8,40 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,11 (d, 2H, J =8,64 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,04 (d, 2H, J =8,52 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,68 (šs, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,63 (d, 1H, J =7,70 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,27 (šs, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 147,28, 147,27, 143,68, 137,48, 133,48 (2C), 130,42 (2C), 118,79, 124,55, 123,18, 119,20, 118,79, 116,07, 135,58, 112,09, 105,99.

4.3.2. Priprava 2,6-dicijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina **17**

0,480 g (1,78 mmol) 2-(2-benzimidazolil)-3-(4-cijanofenil)akrilonitrila **16** otopi se u 800 ml etanola uz zagrijavanje, ulije u posudu te se osvjetljava visokotlačnom živinom lampom snage 400 W 20 h. Tijekom reakcije ciklizacije nastaju žuti kristali koji se nakon završetka reakcije filtriraju. Dobiveno je 0,146 g (31%) žuto-smeđeg kristaliničnog produkta.

T.t. >300 °C

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 8,99 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,75 (d, 1H, J =8,34 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,73 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,17 (d, 1H, J =8,10 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,93 (d, 1H, J =8,10 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,89 (d, 1H, J =7,86 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,53–7,47 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 144,10, 143,97, 139,97, 135,80, 132,50, 130,83, 128,47, 126,03, 124,82, 124,78, 120,85, 119,96, 118,44, 115,74, 115,35, 115,28, 104,62.

4.3.3. Priprava benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2,6-dikarboksilne kiseline **18**

U okruglu tikvicu stavi se 0,200 g (0,75 mmol) 2,6-dicijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina **17** i doda se smjesa 1,8 ml sumporne kiseline i 2,5 ml vode. Reakcijska smjesa refluksira 48 h. Ohlađena reakcijska smjesa se izlije na led, nastali talog se filtrira i prekrizalizira iz DMF-a. Dobiveno je 0,171 g (75%) žutog praškastog produkta.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 13,93 (šs, 2H, COOH), 9,11 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,77 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,47–8,44 (m, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,39 (d, 1H, J =8,22 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,12 (d, 1H, J =8,21 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,07–8,04 (m, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,70–7,64 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ = 167,67, 165,21, 146,84, 143,37, 136,85, 136,60, 135,13, 133,47, 131,27, 126,82, 126,34, 126,21, 125,62, 121,28, 121,04, 117,16, 115,34.

4.3.4. Priprava benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2,6-dikarbonilklorida 19

U okruglu tikvicu stavi se 0,295 g (0,96 mmol) spoja **18** i 20 ml suhog toluena te se doda 1,40 ml SOCl₂. Reakcijska smjesa se zagrijava na temperaturi vrenja 19 h. Po završetku reakcije otopina se upari pod sniženim tlakom do suha, te par puta ispere toluenom. Dobiveno je 0,306 g (93%) žutog praškastog produkta. T.t. >300 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 9,39 (d, 1H, *J*=6,90 Hz, H_{arom.}), 9,38 (s, 1H, H_{arom.}), 8,80–8,75 (m, 1H, H_{arom.}), 8,68 (d, 1H, *J*=8,31 Hz, H_{arom.}), 8,36 (d, 1H, *J*=8,31 Hz, H_{arom.}), 8,26–8,23 (m, 1H, H_{arom.}), 7,95–7,87 (m, 1H, H_{arom.}); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ=166,56, 164,44, 142,65, 141,53, 136,27, 135,08, 133,49, 128,93, 128,60, 127,31, 127,07, 126,03, 117,82, 116,92, 116,77, 116,27.

4.3.5. Priprava [6-(piperidin-1-karbonil)benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-il]-(piperidin-1-il)metanona 20

U okruglu tikvicu stavi se 0,140 g (0,41 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2,6-dikarbonilklorida **19**, doda se 20 ml suhog diklormetana te 0,24 ml piperidina. Reakcijska smjesa miješa se na sobnoj temperaturi 2 h. Reakcijska smjesa se zatim ispere s 10 ml 20% Na₂CO₃ i s 10 ml vode. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO₄. Nastali produkt je pročišćen kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH₂Cl₂/CH₃OH kao eluens, pri čemu je dobiveno 0,107 g (59%) žutog praškastog produkta.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 8,74–8,69 (m, 1H, H_{arom.}), 8,67 (s, 1H, H_{arom.}), 8,16 (d, 1H, *J*=8,07 Hz, H_{arom.}), 8,03 (s, 1H, H_{arom.}), 8,00–7,98 (m, 1H, H_{arom.}), 7,61–7,56 (m, 3H, H_{arom.}), 3,70 (šs, 2H, CH₂), 3,38 (šs, 4H, CH₂), 3,25 (šs, 2H, CH₂), 1,65 (šs, 4H, CH₂), 1,50 (šs, 4H, CH₂); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆): δ=167,65, 163,82, 144,83, 144,12, 138,53, 134,45, 130,35, 130,31, 128,16, 127,17, 124,67, 123,28, 122,71, 122,69, 120,18, 114,75, 113,19, 47,57 (2C), 42,00 (2C), 25,96 (2C), 25,29 (2C), 24,05, 23,95.

4.3.6. Priprava *N*-izobuti(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-2,6-dikarboksamida 21

U okruglu tikvicu stavi se 0,070 g (0,20 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2,6-dikarbonilklorida **19**, doda se 15 ml suhog diklormetana te 0,12 ml izobutilamina. Reakcijska smjesa miješa se na sobnoj temperaturi 2 h. Reakcijska smjesa se zatim ispere s 10 ml 20% Na₂CO₃ i s 10 ml vode. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO₄. Dobiveno je 0,020 g (24%) žutog praškastog produkta. T.t. >300 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 10,59 (t, 1H, *J*=5,93 Hz, NH), 9,09 (s, 1H, H_{arom.}), 9,00 (t, 1H, *J*=6,51 Hz, NH), 8,82 (s, 1H, H_{arom.}), 8,72–8,68 (m, 1H, H_{arom.}), 8,40 (d, 1H, *J*=8,25 Hz, H_{arom.}), 8,08 (d, 1H, *J*=8,25 Hz, H_{arom.}), 8,05–8,02 (m, 1H, H_{arom.}), 7,70–7,62 (m, 2H,

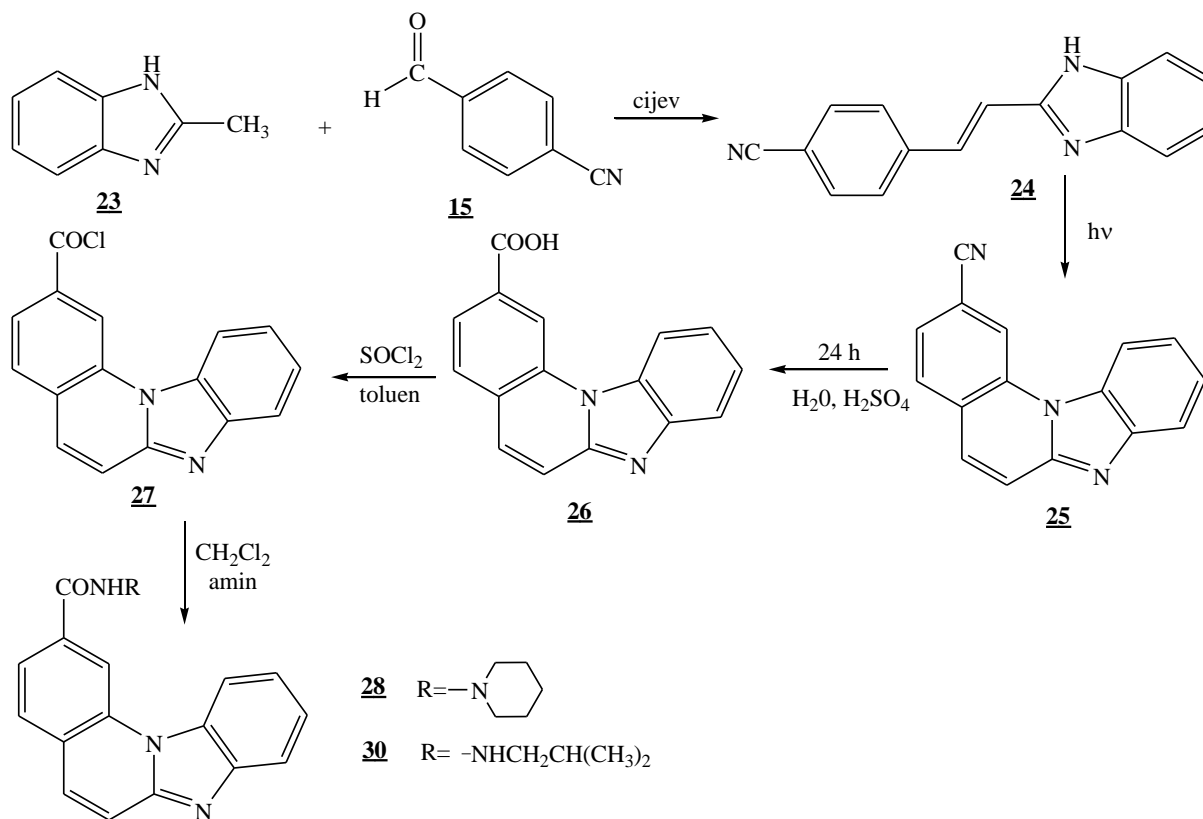
H_{arom.}), 3,39 (t, 2H, $J=6,18$ Hz, CH₂), 3,22 (t, 2H, $J=6,19$ Hz, CH₂), 2,01–1,91 (m, 2H, CH), 1,05 (d, 6H, $J=6,66$ Hz, CH₃), 0,97 (d, 6H, $J=6,63$ Hz, CH₃); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta=165,93, 162,20, 143,28, 138,23, 135,67, 134,61, 131,99, 130,58, 125,72, 124,22, 123,83, 121,81, 120,43, 115,19, 114,57, 47,66, 47,19, 20,62, 28,60, 20,71$ (2C), 20,59 (2C).

4.3.7. Priprava *N,N*-dimetilaminopropil(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-2,6-dikarboksamida 22

U okruglu tikvicu stavi se 0,100 g (0,29 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2,6-dikarbonilklorida **19**, doda se 15 ml suhog diklormetana te 0,22 ml *N,N*-dimetilaminopropil-1-amina. Reakcijska smjesa miješa se na sobnoj temperaturi 2 h. Dobiveni talog se profiltrira, a filtrat se ispere s 10 ml 20% Na₂CO₃ i s 10 ml vode. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO₄. Dobiveno je 0,030 g (22%) žutog praškastog produkta.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta= 10,54$ (t, 1H, $J=5,64$ Hz, NH), 9,08 (s, 1H, H_{arom.}), 9,03 (t, 1H, $J=5,42$ Hz, NH), 8,82 (s, 1H, H_{arom.}), 8,75–8,66 (m, 1H, H_{arom.}), 8,40 (d, 1H, $J=8,28$ Hz, H_{arom.}), 8,09–8,00 (m, 2H, H_{arom.}), 7,71–7,61 (m, 2H, H_{arom.}), 3,58–3,52 (m, 2H, CH₂), 3,49–3,36 (m, 2H, CH₂), 2,40 (t, 2H, $J=6,78$ Hz, CH₂), 2,32 (t, 2H, $J=7,09$ Hz, CH₂), 2,21 (s, 6H, CH₃), 2,17 (s, 6H, CH₃), 1,89–1,69 (m, 4H, CH₂); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta=169,69, 162,07, 146,32, 143,19, 137,97, 135,79, 134,74, 132,18, 130,97, 130,00, 126,96, 129,92, 124,30, 123,83, 121,69, 120,41, 119,29, 114,44, 57,50, 57,12, 45,74, 45,55, 38,62, 37,86, 27,52, 27,40$.

4.4. Sinteza derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina-2-karboksamida



Slika 34. Sinteza derivata benzimidazo[1,2-a]kinolina-2-karboksamida

4.4.1. Priprava *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazola 24

Smjesa 5,04 g (37,81 mmol) 4-cijanobenzaldehida **15** i 5,00 g (37,81 mmol) 2-metilbenzimidazola **23** stavi se u cijev, zatali i grije 2 h na 200 °C. Nakon hlađenja, kruti se produkt ispere metanolom, nastali produkt profiltrira i prekrizalizira iz metanola, te se dobije žuti igličasti produkt u iskorištenju od 71% (6,60 g); T.t. 220–221 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ=12,72 (s, 1H, NH), 7,85 (šs, 4H, H_{arom.}), 7,69 (d, 1H, *J*=16,47 Hz, H_{etenil}), 7,54 (d, 1H, *J*=6,99 Hz, H_{arom.}), 7,49 (d, 1H, *J*=6,90 Hz, H_{arom.}), 7,39 (d, 1H, *J*=16,50 Hz, H_{etenil}), 7,26–7,11 (m, 2H, H_{arom.}); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ=161,43, 150,66, 140,90, 133,28 (2C), 132,82, 131,15, 130,45, 128,17 (2C), 123,42, 122,29, 121,71, 119,38, 119,32, 114,75.

4.4.2. Priprava 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina 25

0,400 g (1,63 mmol) spoja **24** otopi se u 400 ml etanola uz zagrijavanje, ulije u posudu te se osvjetljava visokotlačnom živinom lampom snage 400 W 12 h. Reakcijska smjesa se upari pod sniženim tlakom na mali volumen, a dobiveni talog se profiltrira. Dobiven je žuti praškasti produkt u iskorištenju 31% (0,123 g); T.t. 210–212 °C

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ/ppm = 9,13 (s, 1H, H_{arom.}), 8,86 (d, 1H, *J* = 8,88, H_{arom.}), 8,27 (d, 1H, *J* = 8,13, H_{arom.}), 8,01–7,94 (m, 3H, H_{arom.}), 7,82 (d, 1H, *J* = 9,51, H_{arom.}), 7,60–7,53 (m, 2H, H_{arom.}).

4.4.3. Priprava benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilne kiseline 26

U okruglu tikvicu stavi se 0,158 g (0,65 mmol) 2-cijanobenzimidazo[1,2-*a*]kinolina **25** i doda se smjesa 0,8 ml sumporne kiseline i 1,0 ml vode. Reakcijska smjesa refluksira 20 h. Ohlađena reakcijska smjesa se izlije na led, nastali talog se profiltrira i ispere s vodom. Dobiveno je 0,166 g (98%) svijetlo smeđeg praškastog produkta. T.t. > 300 °C

¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ/ppm = 9,20 (s, 1H, H_{arom.}), 8,52 (d, 1H, *J* = 7,14 Hz, H_{aromat.}), 8,27–8,22 (m, 2H, H_{arom.}), 8,15 (d, 1H, *J* = 8,10 Hz, H_{arom.}), 8,04–8,00 (m, 1H, H_{arom.}), 7,89 (d, 1H, *J* = 9,51 Hz, H_{arom.}), 7,73–7,65 (m, 2H, H_{arom.}); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ/ppm = 167,78, 147,72, 142,31, 135,54, 134,22, 133,63, 131,63, 131,17, 127,63, 126,83, 126,46, 125,47, 120,21, 119,08, 117,56, 115,72.

4.4.4. Priprava benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonilklorida 27

U okruglu tikvicu stavi se 0,300 g (1,14 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karboksilne kiseline **26** i 20 ml suhog toluena te se doda 0,82 ml SOCl₂. Reakcijska smjesa se zagrijava na

temperaturi vrenja 19 h. Po završetku reakcije otopina se upari, par puta ispere toluenom. Dobiveno je 0,284 g (88%) svijetlo smeđeg praškastog produkta. T.t. > 300 °C

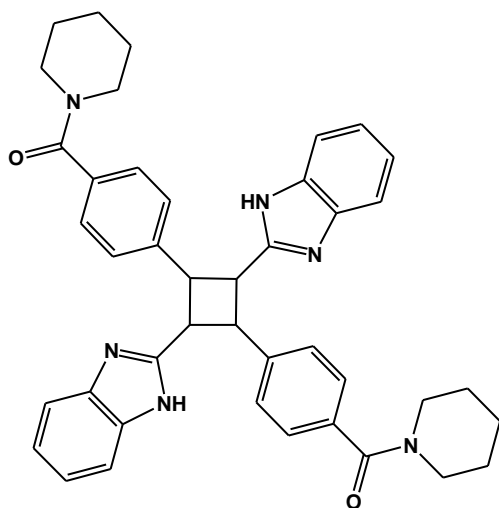
^1H NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz): δ/ppm = 9,33 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,70 (d, 1H, J = 8,16 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,60 (d, 1H, J = 9,42 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,43 (d, 1H, J = 8,22 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,28 (dd, 1H, J_1 = 1,02 Hz, J_2 = 8,16 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,12–8,10 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,86 (t, 1H, J = 7,05 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,83 (t, 1H, J = 7,80 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ/ppm = 166,28, 144,65, 136,40, 133,61, 133,31, 130,97, 129,40, 129,02, 128,15, 127,22, 126,59, 126,17, 117,10, 116,47, 115,47, 114,78.

4.4.5. Priprava (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-il)(piperidin-1-il)metanona **28**

U okruglu tikvicu stavi se 0,100 g (0,36 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonilklorida **27**, doda se 20 ml suhog diklormetana te 0,11 ml piperidina. Reakcijska smjesa miješa se na sobnoj temperaturi 2 h. Dobivena je smjesa produkata, koji su uspješno razdvojeni kolonskom kromatografijom na silikagelu uz $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ kao eluens.

28: m=0,010 g (8%)

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ =8,69–8,67 (m, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,65 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,13 (d, 1H, J =8,04 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,00 (d, 1H, J =9,54 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,96–7,93 (m, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,71 (d, 1H, J =9,51 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,59–7,51 (m, 3H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 3,70 (šs, 2H, CH_2), 1,65 (šs, 4H, CH_2), 1,50 (šs, 4H, CH_2); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ =168,25, 148,13, 144,77, 138,63, 135,14, 131,64, 130,74, 130,44, 124,97, 123,82, 123,45, 123,04, 120,44, 118,66, 115,16, 113,77, 24,56 (4C).



29: [4-[2,4(bis(1H-benzimidazol-2-il)-3-[4-(piperidin-1-karbonil)fenil]ciklobutil]fenil]-(piperidin-1-il)metanon

m=0,033 g

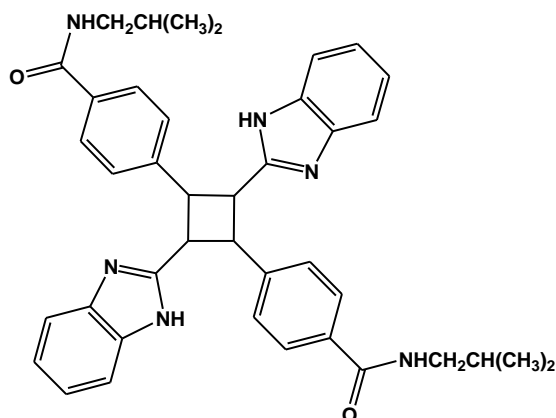
^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ =12,11 (šs, 2H, $\text{NH}_{\text{benzimid.}}$), 7,39 (šs, 4H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,23 (d, 4H, J =8,16 Hz $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,11 (d, 4H, J =8,16 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,06–7,00 (m, 4H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 5,02 (d, 2H, J =6,36 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 4,78 (d, 2H, J =6,39 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 3,49 (šs, 4H, CH_2), 1,56 (šs, 8H, CH_2), 1,49 (šs, 8H, CH_2).

4.4.6. Priprava *N*-izobutil(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-2-karboksamida **30**

U okruglu tikvicu stavi se 0,100 g (0,36 mmol) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-karbonilklorida **27**, 15 ml CH_2Cl_2 te 0,11 ml izobutilamina. Reakcijska smjesa se miješa na sobnoj temperaturi 2 h. Dobiveni talog **31** se profiltrira, a filtrat se ispiri s 20% Na_2CO_3 i dva puta vodom. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO_4 . Dobiveno je 0,045 g (40%) spoja **31** te 0,015 g (13%) spoja **30**. T.t. (**30**) 195–198 °C ; T.t.(**31**) 291–294 °C

30:

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ =9,05 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,94 (t, 1H, J =5,36 Hz, $\text{NH}_{\text{amid.}}$), 8,65–8,62 (m, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,16 (d, 1H, J =8,19 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 8,05–8,00 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,99–7,95 (m, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,75 (d, 1H, J =9,45 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,61–7,58 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 3,21 (t, 1H, J =6,38 Hz, CH_2), 2,01–1,89 (m, 1H, CH), 0,97 (d, 6H, J =6,66 Hz, CH_3).



31: 1,3-di-(2-benzimidazolil)-2,4-di-[(4-isobutylkarboksamido)fenil]ciklobutan

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ =12,17 (šs, 2H, $\text{NH}_{\text{benzimid.}}$), 8,31 (t, 2H, J =5,65 Hz, $\text{H}_{\text{amid.}}$), 7,66 (d, 4H, J =8,19 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,30 (d, 4H, J =8,22 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 7,02–6,99 (m, 4H, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 5,08 (d, 2H, J =6,27 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 4,77 (d, 2H, J =6,33 Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$), 3,01 (t, 4H, J =6,39 Hz, CH_2), 1,78–1,75 (m, 2H, CH), 0,84 (d, 12H, J =6,66 Hz, CH_3).

5. ZAKLJUČAK

- U ovom radu pripremljeni su sljedeći karboksamidni derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina: (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(piperidin-1-il)metanon **7**, (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(piperazin-1-il)metanon **8**, [4-(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-karbonil)piperazin-1-il]-(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)metanon **9**, (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(4-*N*-metilpiperazin-1-il)metanon **10**, (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(4-*N*-metilpiperazin-1-il)metanon hidroklorid **11**, *N*-izobutil (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-6-karboksamid **12**, *N,N*-dimetilaminopropil (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-6-karboksamid **13**, *N,N*-dietilaminoetil (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-6-karboksamid **14**, [6-(piperidin-1-karbonil) benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-il]-(piperidin-1-il)m **20**, *N*-izobuti(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-2,6-dikarboksamid **21**, *N,N*-dimetilaminopropil(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-2,6-dikarboksamid **22**, (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-il)(piperidin-1-il)metanon **28**, [4-[2,4(bis(1*H*-benzimidazol-2-il)-3-[4-(piperidin-1-karbonil)fenil]ciklobutil)fenil]-(piperidin-1-il)metanon **29**, *N*-izobutil-(benzimidazo[1,2-*a*]kinolin)-2-karboksamid **30** i 1,3-di-(2-benzimidazolil)-2,4-di-[(4-isobutylkarboksamido)fenil]ciklobutan **31**.
- Aciklički prekursori 2-(2-benzimidazolil)-3-fenilakrilonitrila **3** i **16** priređeni su reakcijama kondenzacije 2-cijanometilbenzimidazola **1** i različito supstituiranih benzaldehida **2** i **15**.
- Aciklički prekursor *E*-2-[2-(*p*-cijanofenil)etenil]benzimidazol **24** priređen je reakcijom kondenzacije 4-cijanobenzaldehida **15** i 2-metilbenzimidazola **23**.
- Derivati cijano-benzimidazo[1,2-*a*]kinolina, **4**, **17** i **25**, priređeni su termičkom ciklizacijom acikličkog prekursora **3** u sulfolanu na 280 °C, te reakcijom fotokemijske dehidrociklizacije spojeva **16** i **24** u etanolu uz dodatak joda te osvijetljavanje UV-Hg lampom od 400 W.
- Tijek fotokemijskih ciklizacija praćen je UV/Vis spektroskopijom.
- Karboksilne kiseline **5**, **18** i **26** priređene su hidrolizom odgovarajućih cijano supstituiranih derivata **4**, **17** i **25**.
- Acilni halogenidi **6**, **19** i **27** priređeni su u reakciji karboksilnih kiselina **5**, **18** i **26** s tionil-kloridom.
- 6-karboksamido, 2,6-karboksamido te 2-karboksamido supstituirani derivati benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **7**, **8**, **10-14**, **20-22** te **28-31** sintetizirani su iz

odgovarajućih acilnih halogenida benzimidazo[1,2-*a*]kinolina **6**, **19** i **27** u reakciji s odgovarajućim aminima u suhom diklormetanu.

- Prilikom sinteze amidnog derivata supstituiranog piperazinskom jezgrom **8**, izoliran je i metanon **9** u čijoj strukturi su dvije jedinice benzimidazo[1,2-*a*]kinolina povezane preko piperazinske jezgre.
- Kod fotokemijske ciklizacije spoja **24**, uz ciklički derivat **25**, [2+2]cikloadicijom nastao je ciklobutanski derivat a reakcijska smjesa nije razdvajana te je podvrgnuta kiselo kataliziranoj hidrolizi i dalje, reakciji s tionil-kloridom.
- Prilikom pripreme 2-karboksamido supstituiranih derivata, uz ciljane amidne derivate **28** i **30**, izolirani su i odgovarajući ciklobutanski derivati **29** i **31**.
- Svim novopripremljenim spojevima potvrđena je struktura primjenom spektroskopije ^1H NMR i ^{13}C NMR.
- Korištenjem UV/Vis spektroskopije provedena je spektroskopska karakterizacija matičnih otopina ciljanih derivata **7**, **8**, **10-14**, **20-22** te **28-31** priređenih u metanolu.
- Korištenjem fluorimetrijske spektroskopije provedena je spektroskopska karakterizacija spojeva s *N*-piperidinil supstituentom, (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-6-il)(piperidin-1-il)metanon **7**, [6-(piperidin-1-karbonil)benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-il]-(piperidin-1-il)metanon **20** i (benzimidazo[1,2-*a*]kinolin-2-il)(piperidin-1-il)metanon **28**, pri koncentraciji spojeva od $5 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$.
- Najveći intenzitet fluorescencije pokazuje spoj **28**, dok najmanji intenzitet fluorescencije pokazuje spoj **7**. Spojevi **7** i **20** pokazuju batokromne pomake maksimuma emisije i hipokromne pomake intenziteta emisije u usporedbi sa spojem **28**.

6. LITERATURA

1. <http://hlpr.hr/hrvatska-liga-protiv-raka>
2. <http://www.cancerresearchuk.org/>.
3. Y. Bansal, O. Silakari, *Bioorg. Med. Chem.* **20** (2012) 6208-6236.
4. G. Yadav, S. Ganguly, *Eur. J. Med. Chem.* **97** (2014) 419-443.
5. M. Hranjec, M. Kralj, I. Piantanida, M. Sedic, L. Syuman, K. Pavelić, G. Karminski-Zamola, *J. Med. Chem.* **50** (2007) 5696-5711.
6. N. Perin, L. Uzelac, I. Piantanida, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M. Hranjec *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011) 6329-6339.
7. S. Gurvinder, K. Maninderjit, C. Mohan *Int. Res. J. Pharm.* **4** (2013) 82-87.
8. E. A. Badawey, T. Kappe, *Eur. J. Med. Chem.* **34** (1999) 663-667.
9. C. Lamazzi, S. Leaonce, B. Pfei, P. Renard, G. Guillaumet, C. W. Reese, T. Besson *Bioorg. Med. Chem.* **10** (2000) 2183-2185.
10. L. W. Deady, T. Rodemann, G. J. Finlay, B. C. Baguley, W. A. Denny *Anti-Cancer Drug design* **15** (2000) 339-346.
11. N. Perin, I. Martin-Kleiner, R. Nhili, W. Laine, M. H. David-Cordonnier, O. Vugrek, G. Karminski-Zamola, M. Kralj; M. Hranjec, *Med. Chem. Commun.* **4** (2013) 1537-1550.
12. C. Velez, O. Cox, C. A. Rosado-Berrios, D. Molina, L. Arroyo, S. Carro, A. Filikov, V. Kumar, S. V. Malhotra, M. Cordero, B. Zayas, *Open Journal of Apoptosis* **2** (2013) 13-22.
13. O. Cox, C. Velez, V. Kumar, S. V. Malhotra, L. A. Rivera, W. J. Hernandez, R. J. Martinez, M. Cordero, B. Zayas *Current Bioactive Compounds* **10** (2014) 286-291.
14. E. A. Lyakhova, Y. A. Gusyeva, J. V. Nekhoroshkova, L. M. Shafran, S. A. Lyakhov, *Eur. J. Med. Chem.* **44** (2009) 3305-3312.
15. R. Rohini, K. Shanker, P. M. Reddy, V. C. Sekhar, V. Ravinder, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **342** (2009) 533-540.
16. R. Rohini, P. M. Reddy, K. Shanker, A. Hu, V. Ravinder, *J. Braz. Chem. Soc.* **21** (2010) 897-904.
17. R. Rohini, K. Shanker, P. M. Reddy, V. Ravinder, *J. Braz. Chem. Soc.* **21** (2010) 49-57.
18. S. G. Bubbly, S. B. Gudennavar, N. M. N. Gowda, R. Bhattacharjee, V. Gayathri, S. Natarajan, *J. Chem. Crystallogr.* **42** (2012) 305-312.

19. C. B. Sangani, H. H. Jardosh, M. P. Patel, R. G. Patel, *Med. Chem. Res.* **22** (2012) 3035-3047
20. P. P. Joshi, S. G. Shirodkar, *World J. Pharm. Pharm. sci.* **3** (2014) 950-958.
21. M. Hranjec, G. Pavlović, M. Marjanović, M. Kralj, G. Karminski-Zamola, *Eur. J. Med. Chem.* **45** (2010) 2405-2417.
22. M. Hranjec, G. Karminski-Zamola, *Molecules* **12** (2007) 1817–1828.
23. N. Perin, R. Nhili, K. Ester, W. Laine, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M. H. David-Cordonnier, M. Hranjec, *Eur. J. Med. Chem.* **80** (2014) 218-227.
24. I. Sović, M. Viskić, B. Bertoša, K. Ester, M. Kralj, M. Hranjec, G. Karminski-Zamola, *Monatshefte für Chemie* **146** (2015) 1503-1517.
25. K. Starčević, I. Čaleta, D. Cinčić, B. Kaitner, M. Kralj, K. Ester, G. Karminski-Zamola, *Heterocycles* **68** (11) (2006) 2285.
26. N. Perin, L. Uzelac, I. Piantanida, G. Karminski-Zamola, M. Kralj i M. Hranjec, *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011) 6329–6339.
27. D. Agić, M. Hranjec, N. Jajčanin, K. Starčević, G. Karminski-Zamola, M. Abramić, *Bioorganic Chemistry* **35** (2007) 153-169.
28. N. Perin, *Doktorska disertacija „Sinteza i biološka aktivnost novih amino supstituiranih benzimidazo[1,2-a]kinolina”* Zagreb, 2014.
29. J. R. Albani, *Principles and Applications of Fluorescence Spectroscopy*, Blackwell Publishing (2007) 98-123.
30. B. Valeur *In: Topics in fluorescence spectroscopy, probe design and chemical sensing*. Volume 4, New York: Plenum Press; (1994) p.21

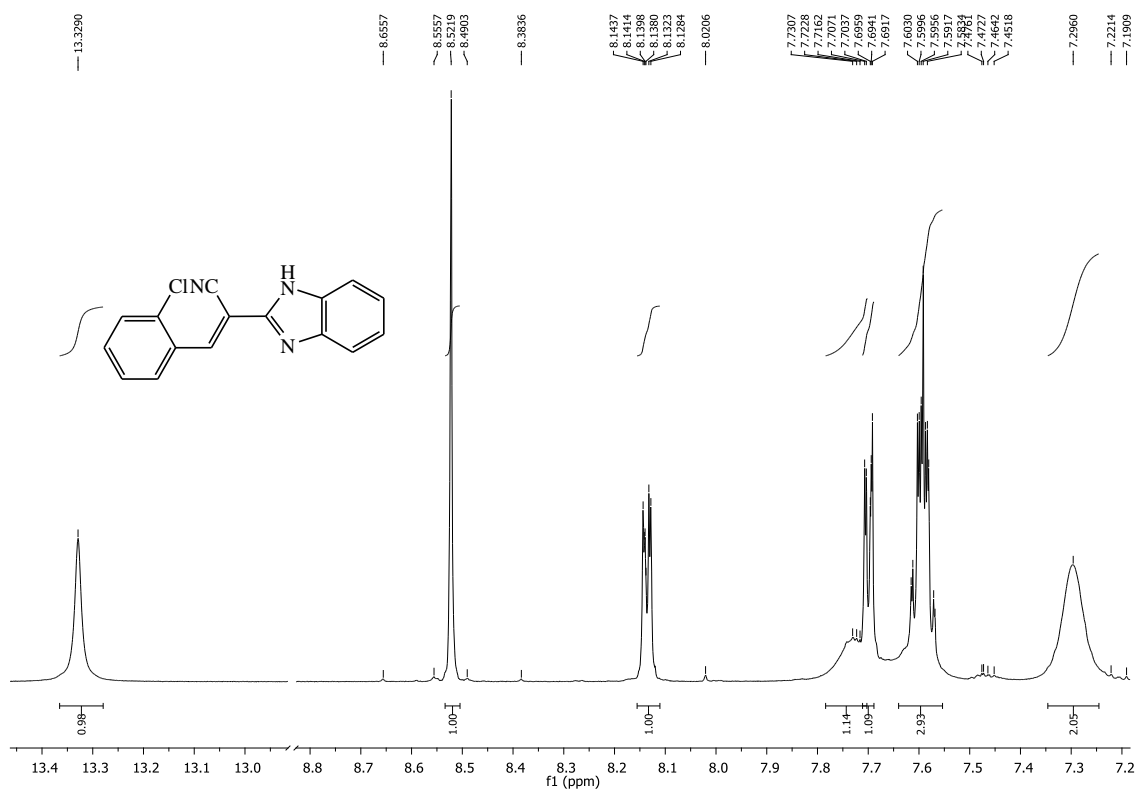
7. ŽIVOTOPIS

Jasna Alić rođena je 16. lipnja 1992. godine u Splitu. Osnovnu školu završila je u Supetru, gdje je 2007. godine upisala Opću gimnaziju u srednjoj školi „Petar Krešimir“. 2011. godine maturira s odličnim uspjehom te upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, smjer Kemijsko inženjerstvo. Za vrijeme studiranja odradila je stručnu praksu u Medicinsko biokemijskom laboratoriju „dr. Ana Galović“. Završni rad izradila je na Zavodu za reakcijsko inženjerstvo i katalizu uz mentorstvo izv. prof. dr. sc. Ane Vrsalović Presečki s temom *Biokatalitička sinteza kalcij karbonata*. 2014. upisala je diplomski studij Kemijsko inženjerstvo, modul Kemijske tehnologije i proizvodi, na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije. Ljetni semestar druge godine diplomskog studija završila je na Fakultetu farmaceutskih znanosti Sveučilišta KU Leuven u Belgiji gdje je položila sve upisane kolegije i stekla dodatnih 29 ECTS bodova. Za vrijeme studiranja u inozemstvu radila je na istraživačkom projektu na Rega institutu za Medicinska istraživanja u sklopu kojeg je, uz mentorstvo prof. dr. Arthura Van Aerschota, izradila rad pod temom *Design and synthesis of novel 4-thioxylo nucleoside analogues as potential antibiotics*. Do sada je sve ispite diplomskog studija položila s prosjekom 4,82.

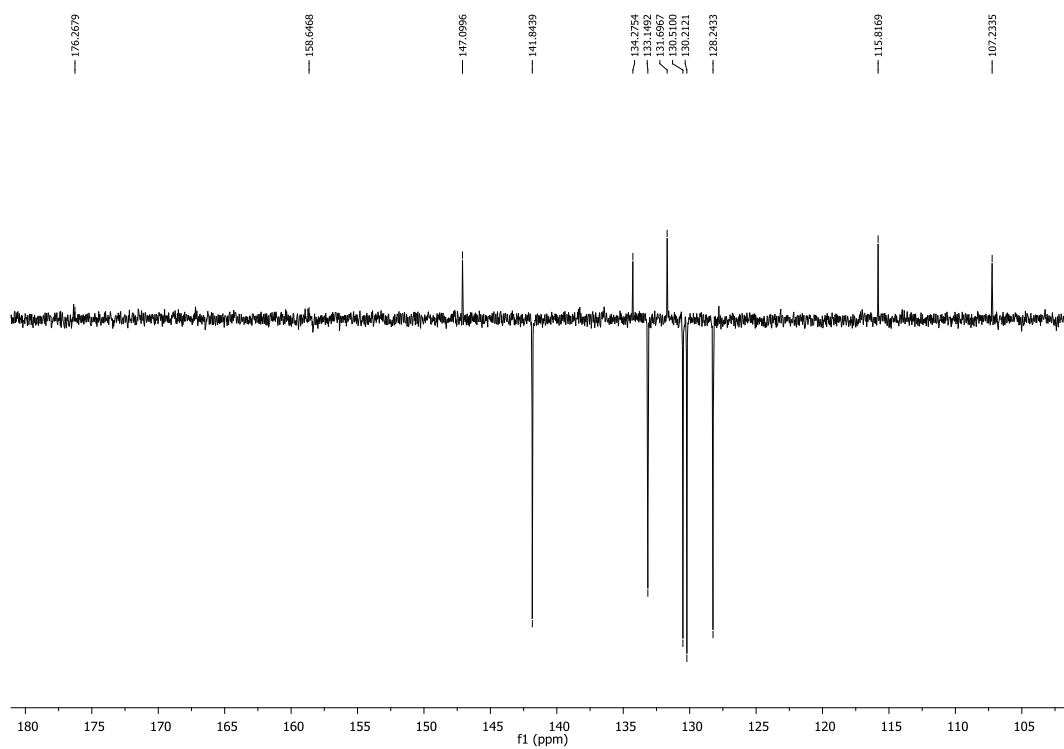
8. PRILOZI

Prilog 1.

a) ^1H NMR spektar spoja **3**

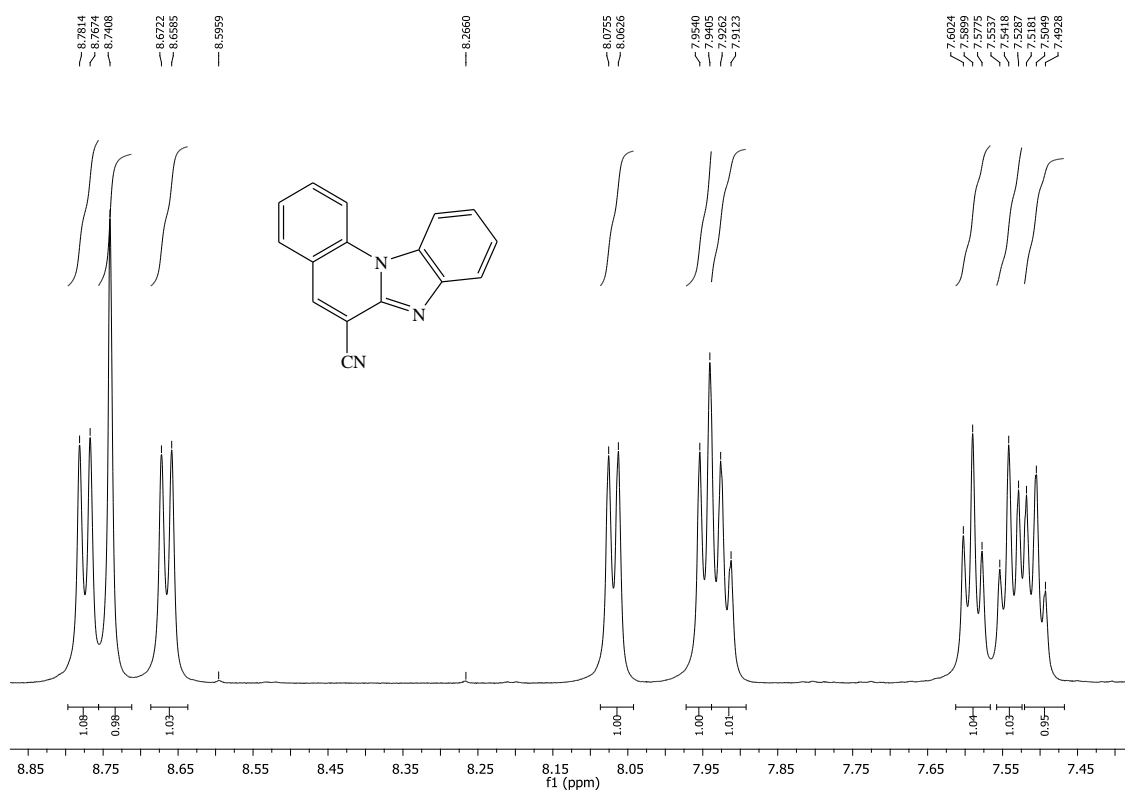


b) ^{13}C NMR spektar spoja **3**

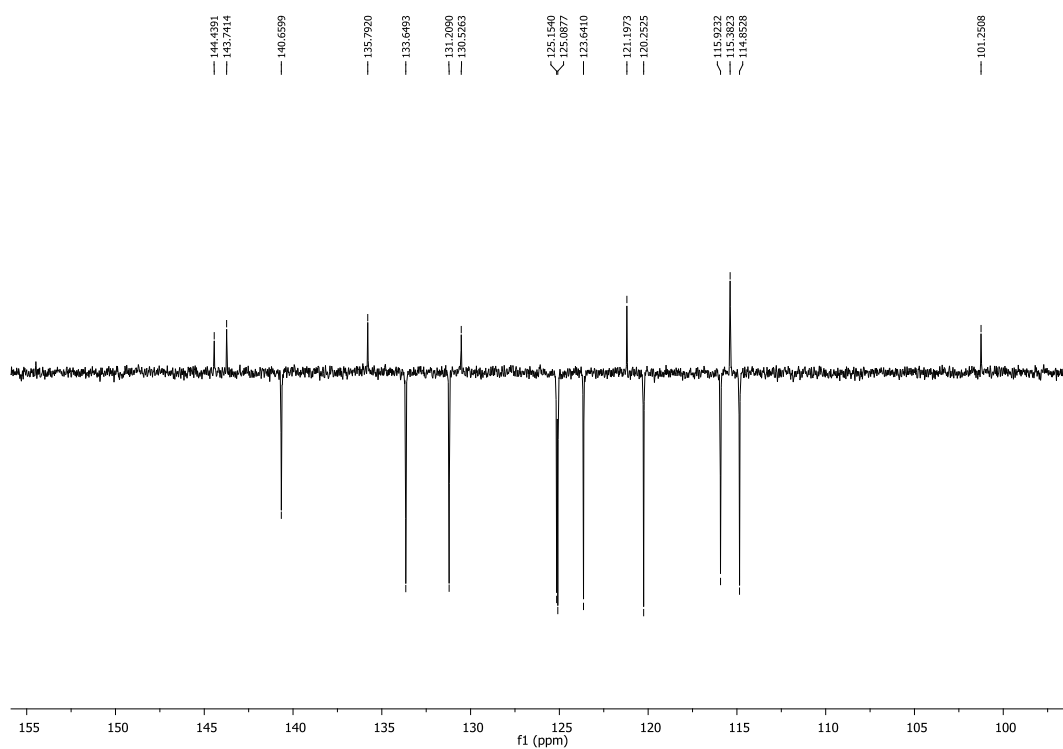


Prilog 2.

a) ^1H NMR spektar spoja **4**

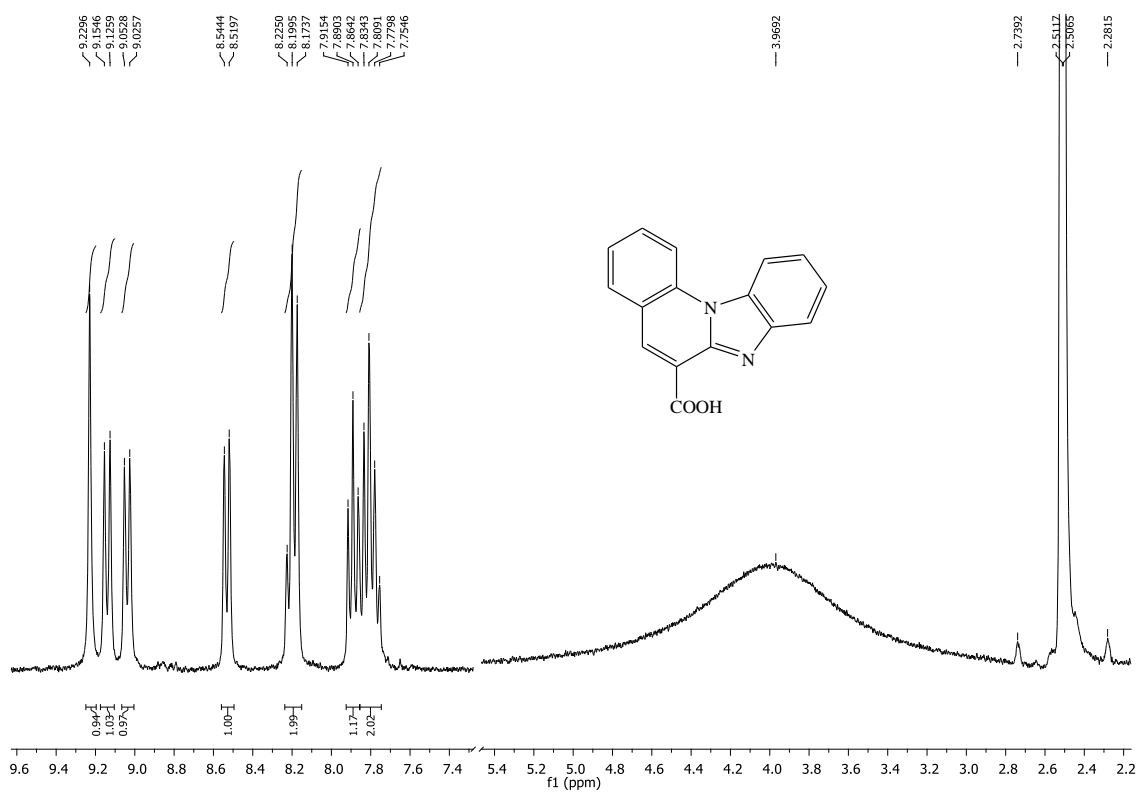


b) ^{13}C NMR spektar spoja **4**

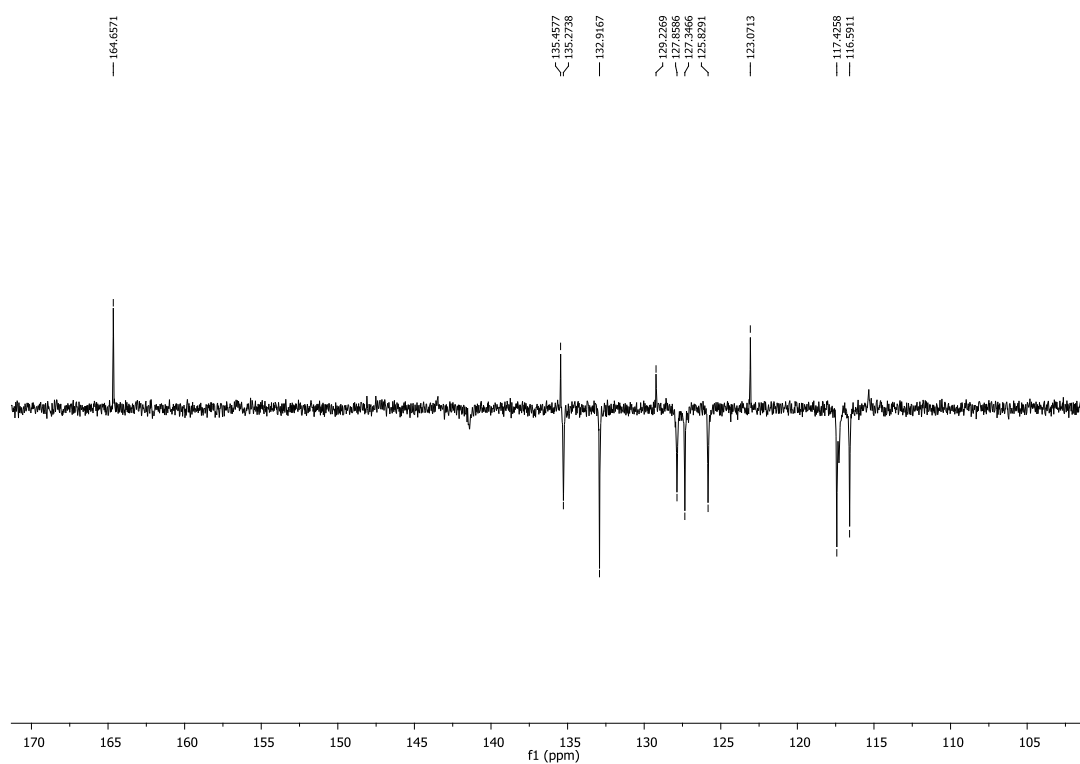


Prilog 3.

a) ^1H NMR spektar spoja **5**

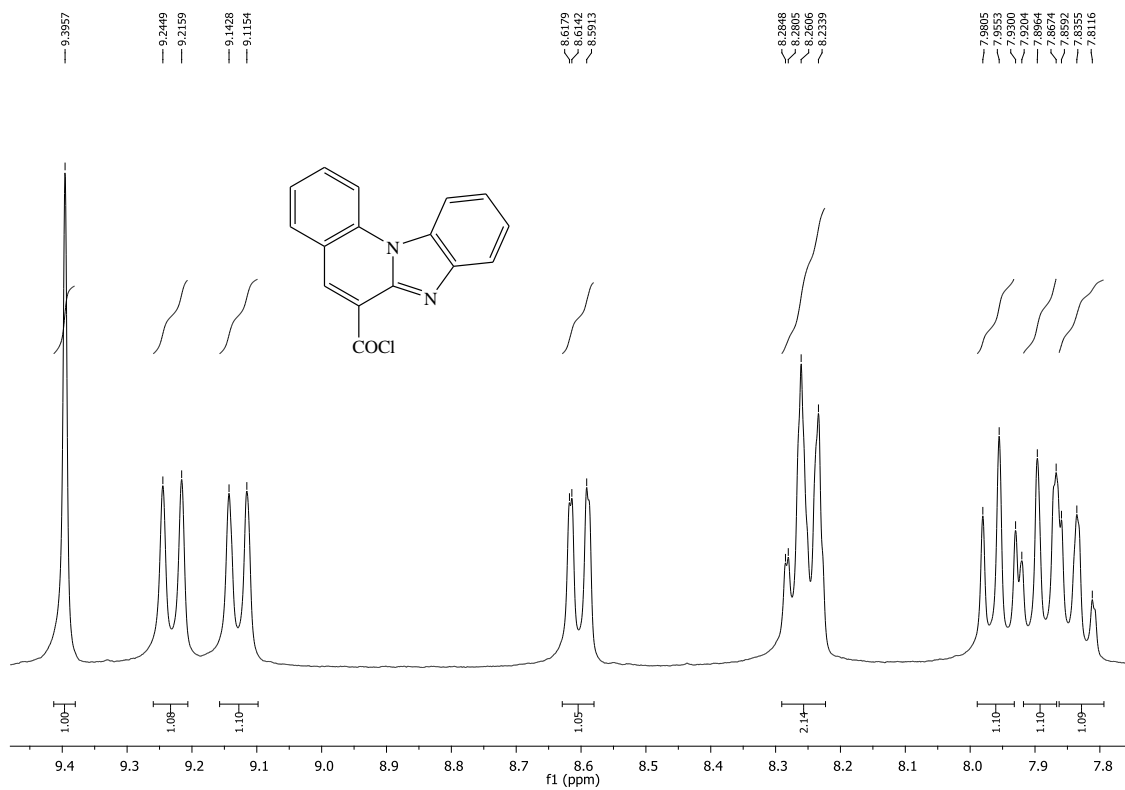


b) ^{13}C NMR spektar spoja **5**

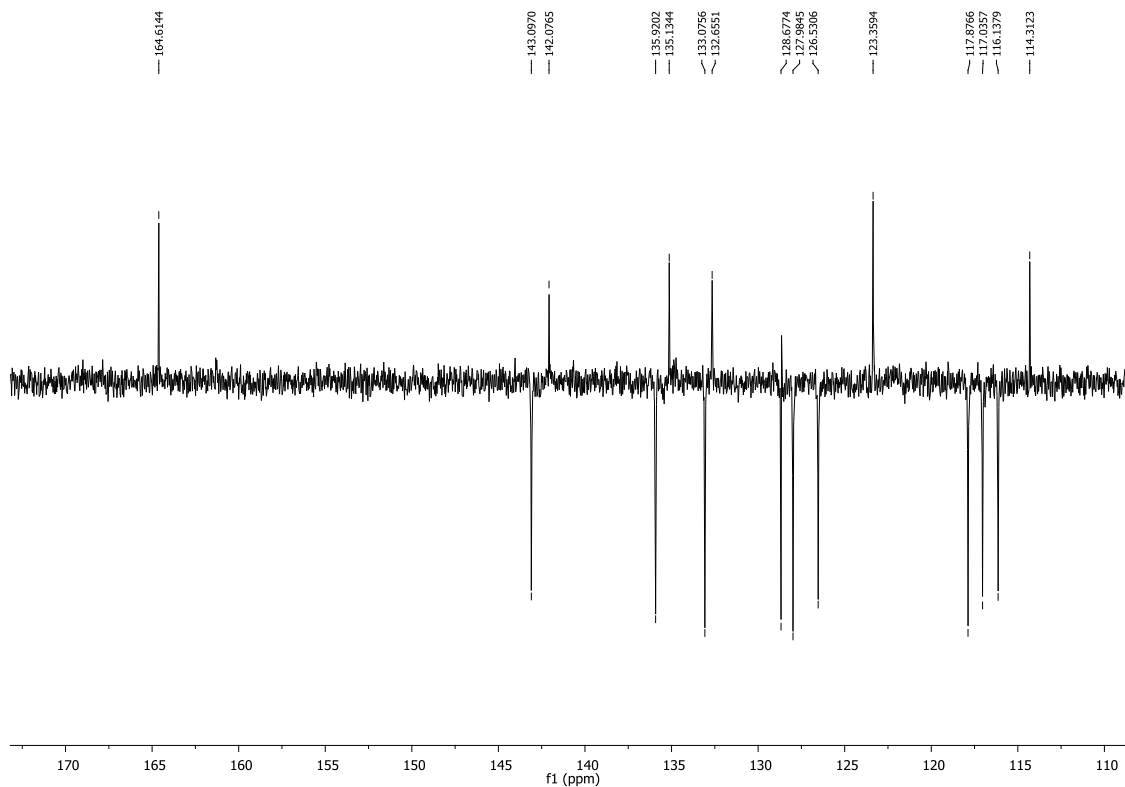


Prilog 4.

a) ^1H NMR spektar spoja **6**

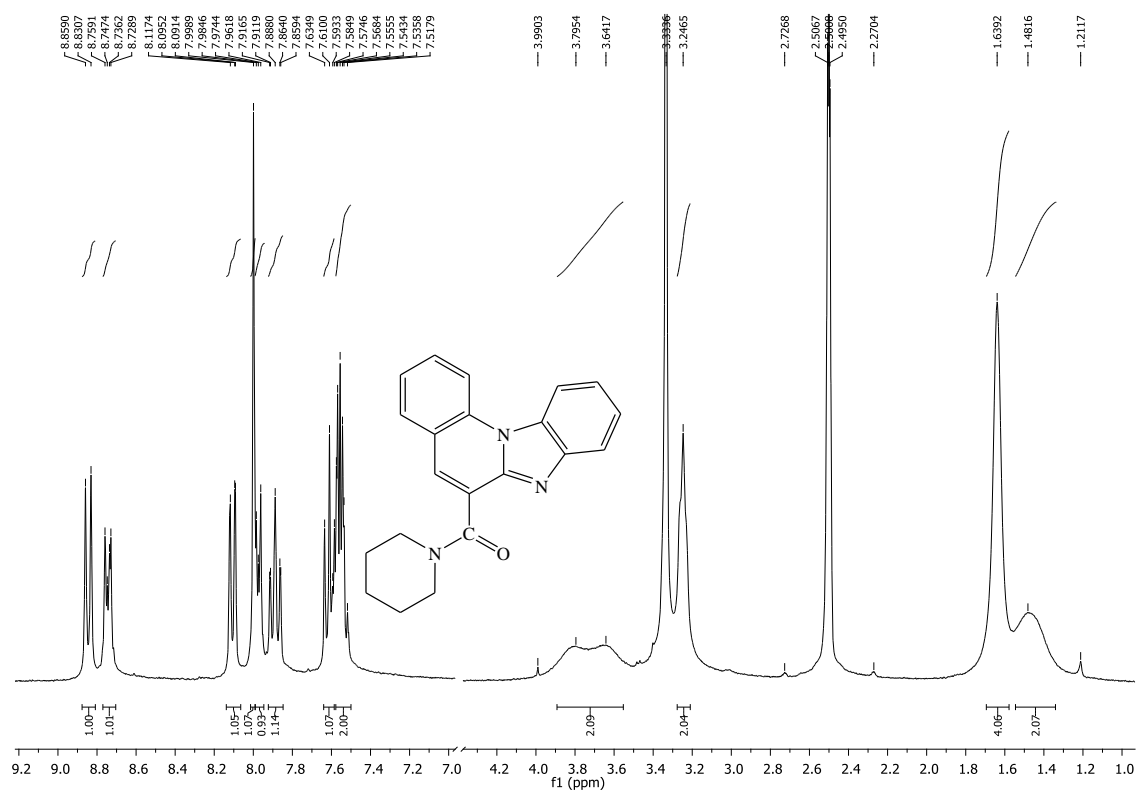


b) ^{13}C NMR spektar spoja **6**

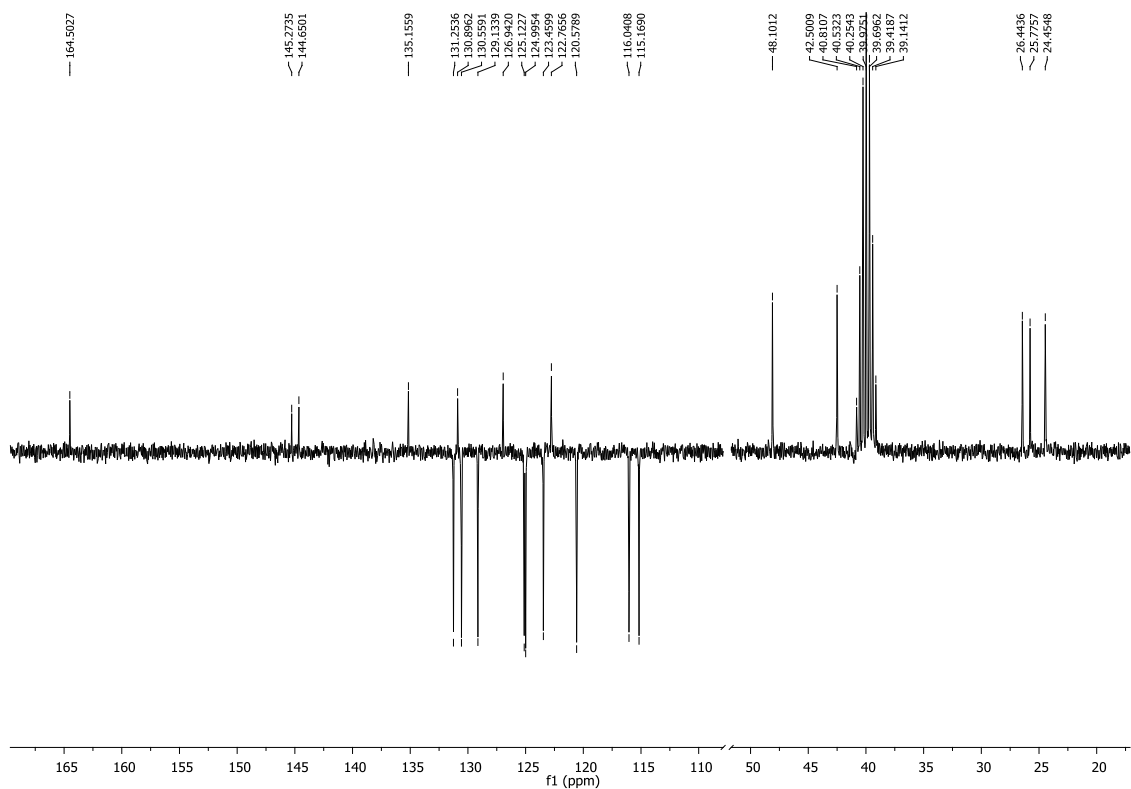


Prilog 5.

a) ^1H NMR spektar spoja **7**

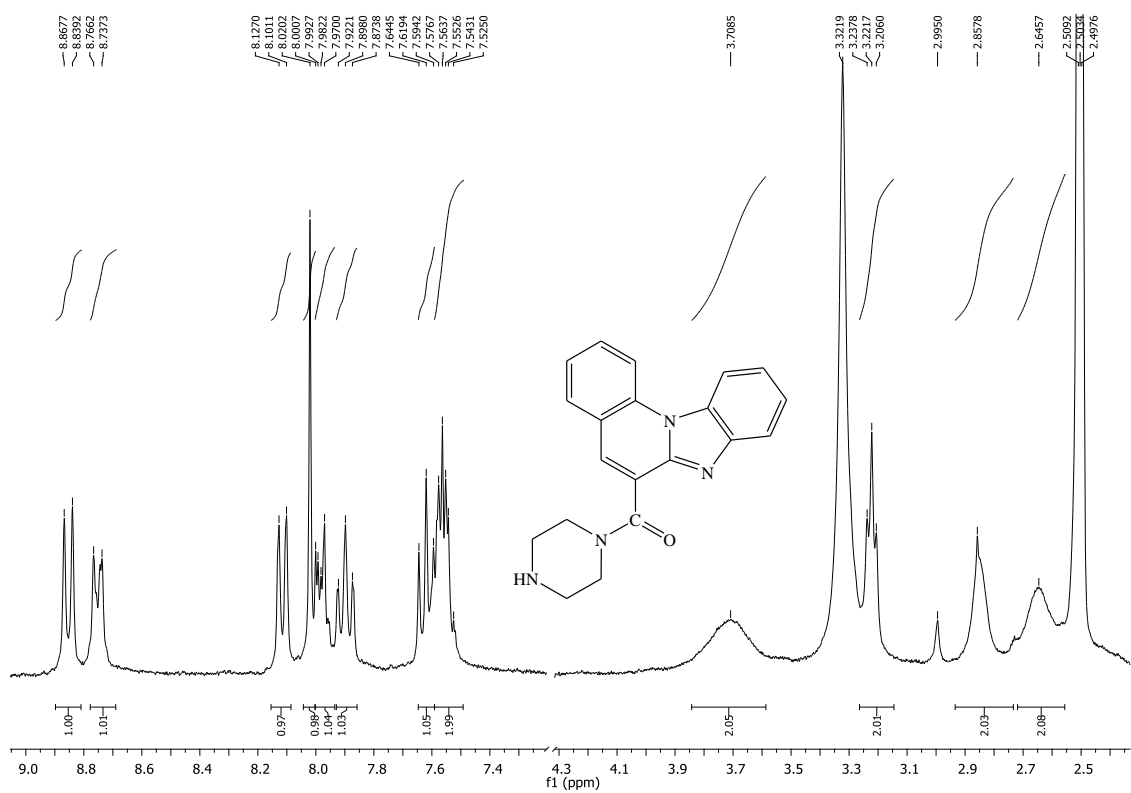


b) ^{13}C NMR spektar spoja **7**

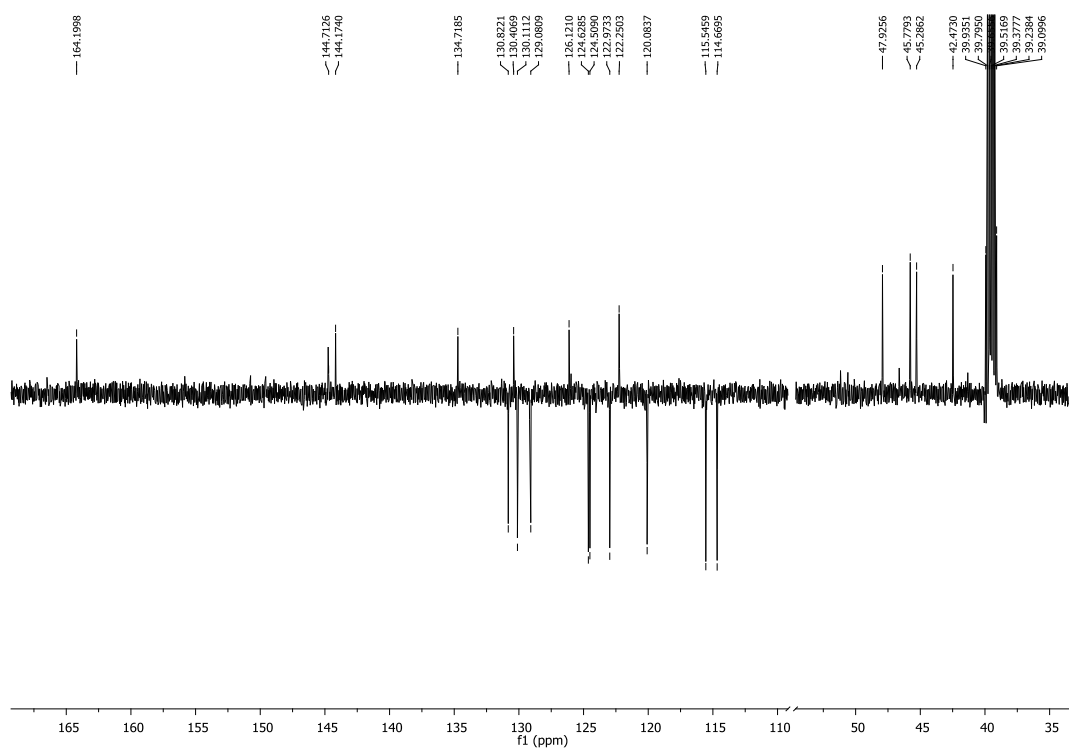


Prilog 6.

a) ^1H NMR spektar spoja **8**

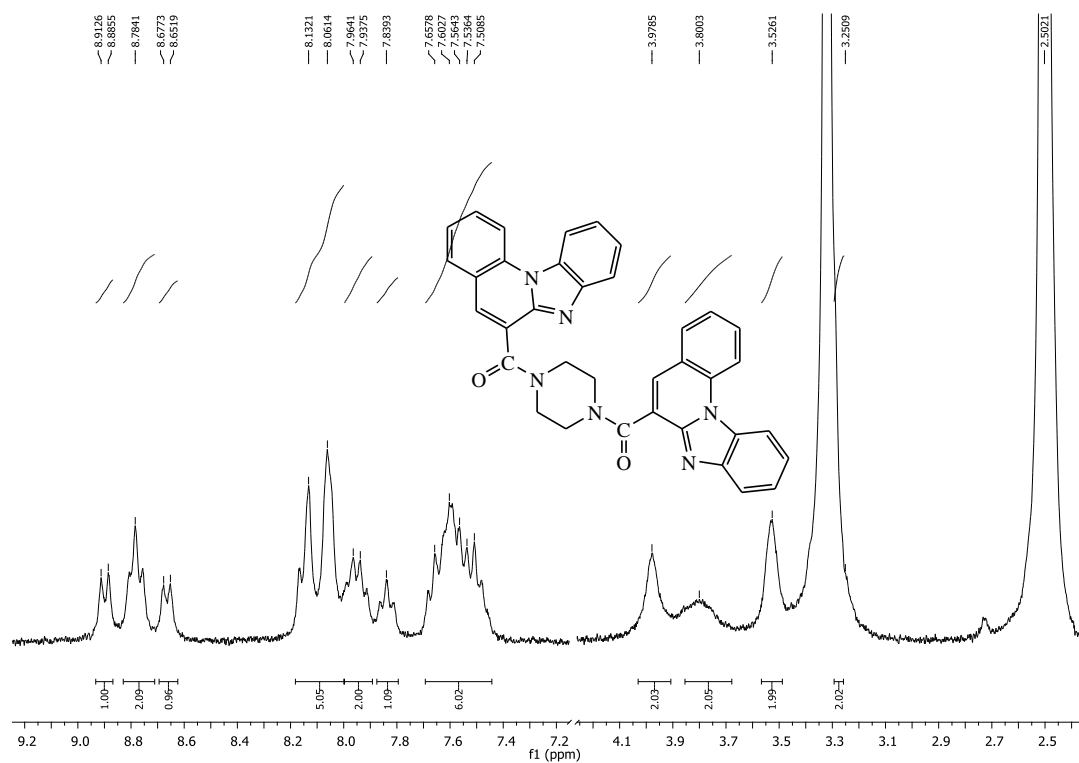


b) ^{13}C NMR spektar spoja **8**



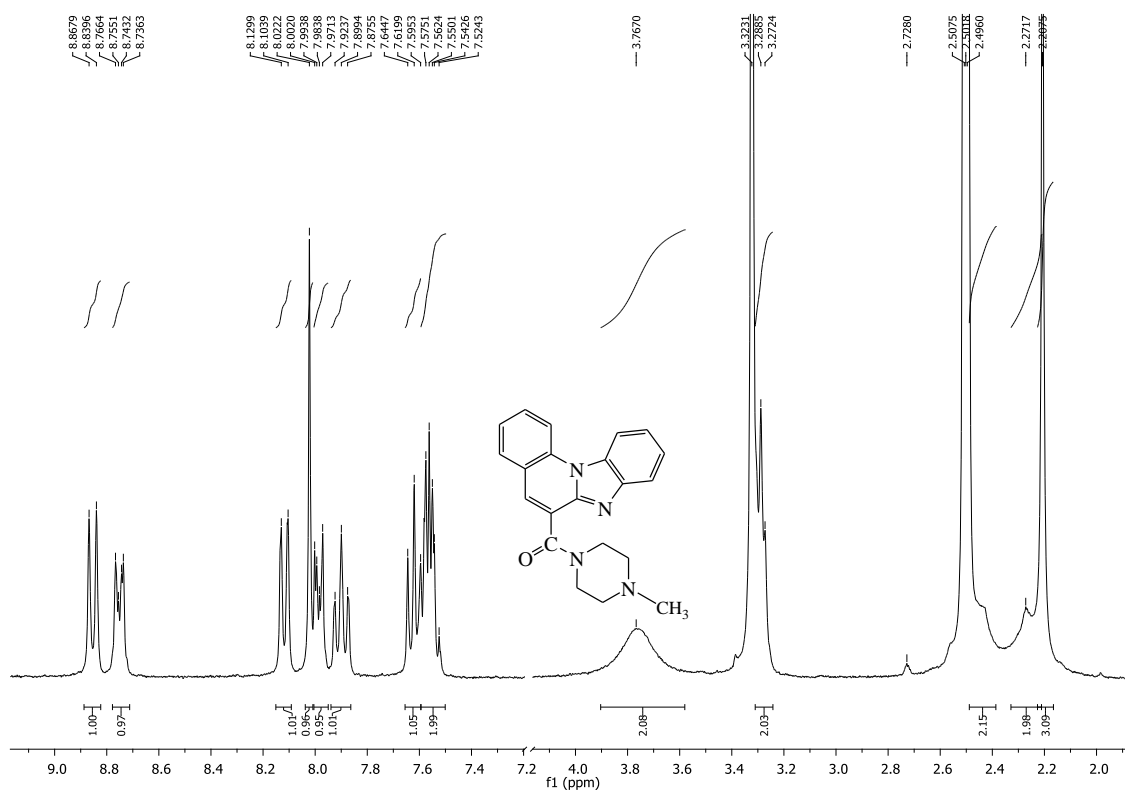
Prilog 7.

a) ^1H NMR spektar spoja **9**

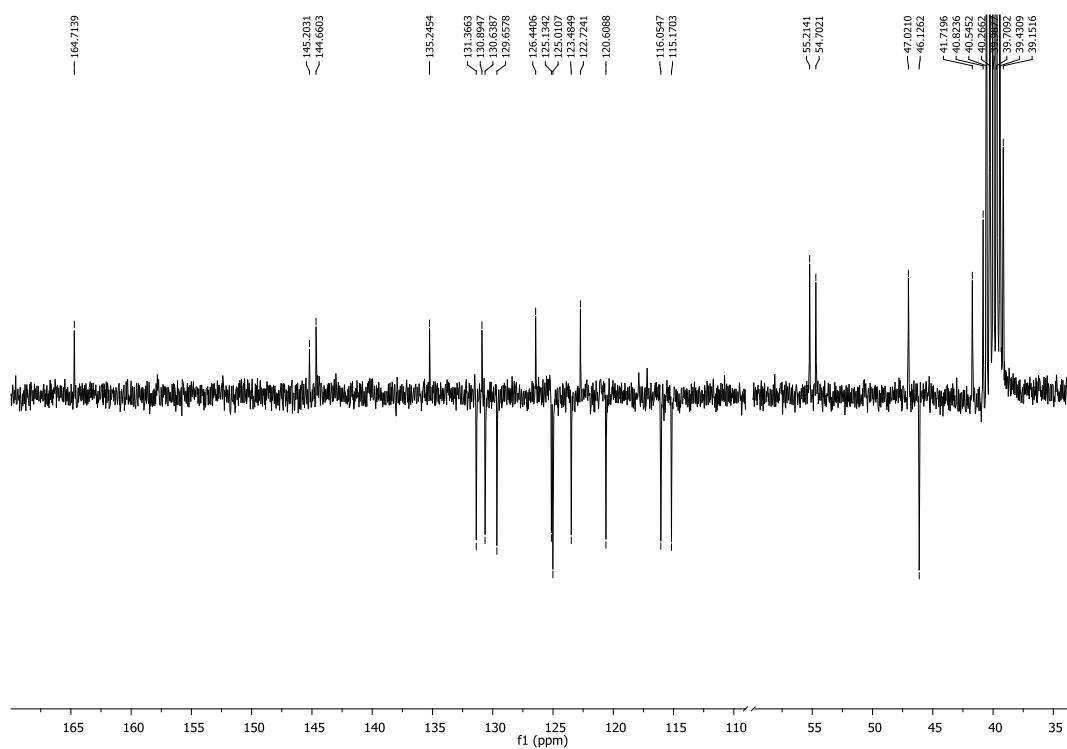


Prilog 8.

a) ^1H NMR spektar spoja **10**

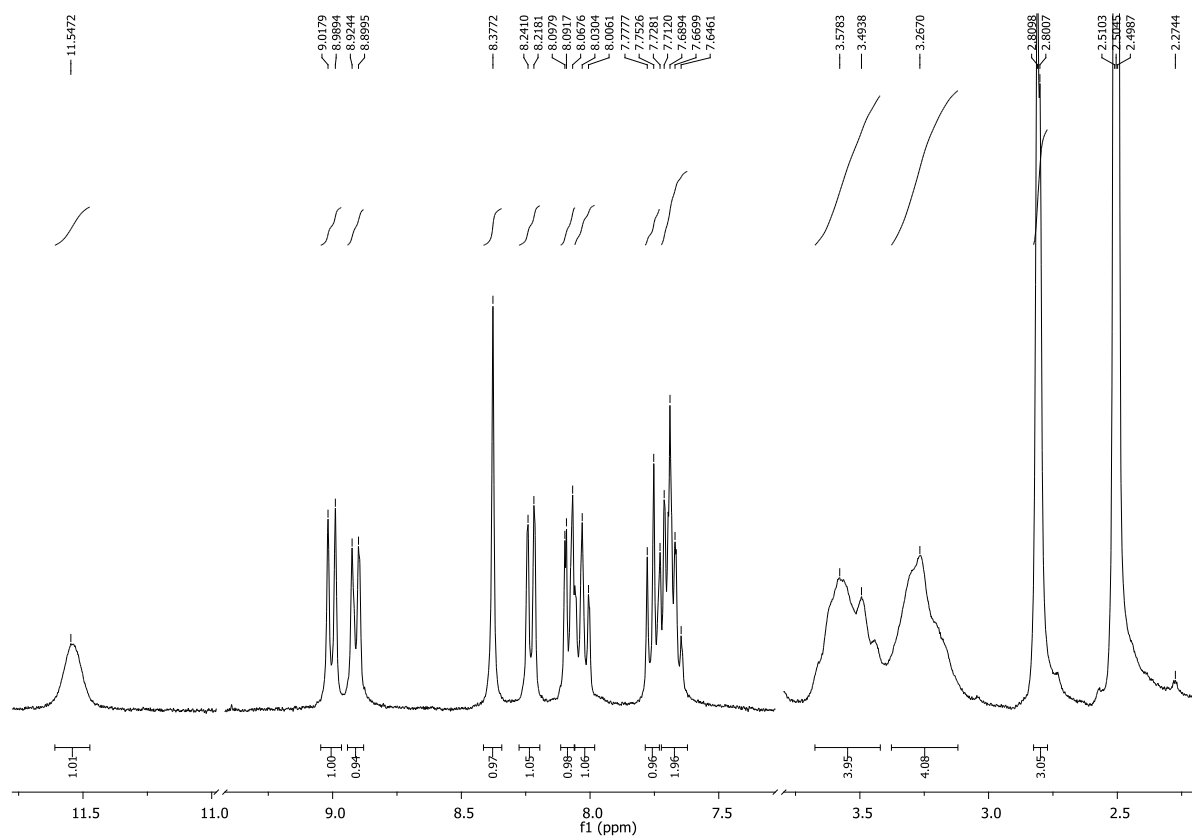


b) ^{13}C NMR spektar spoja **10**



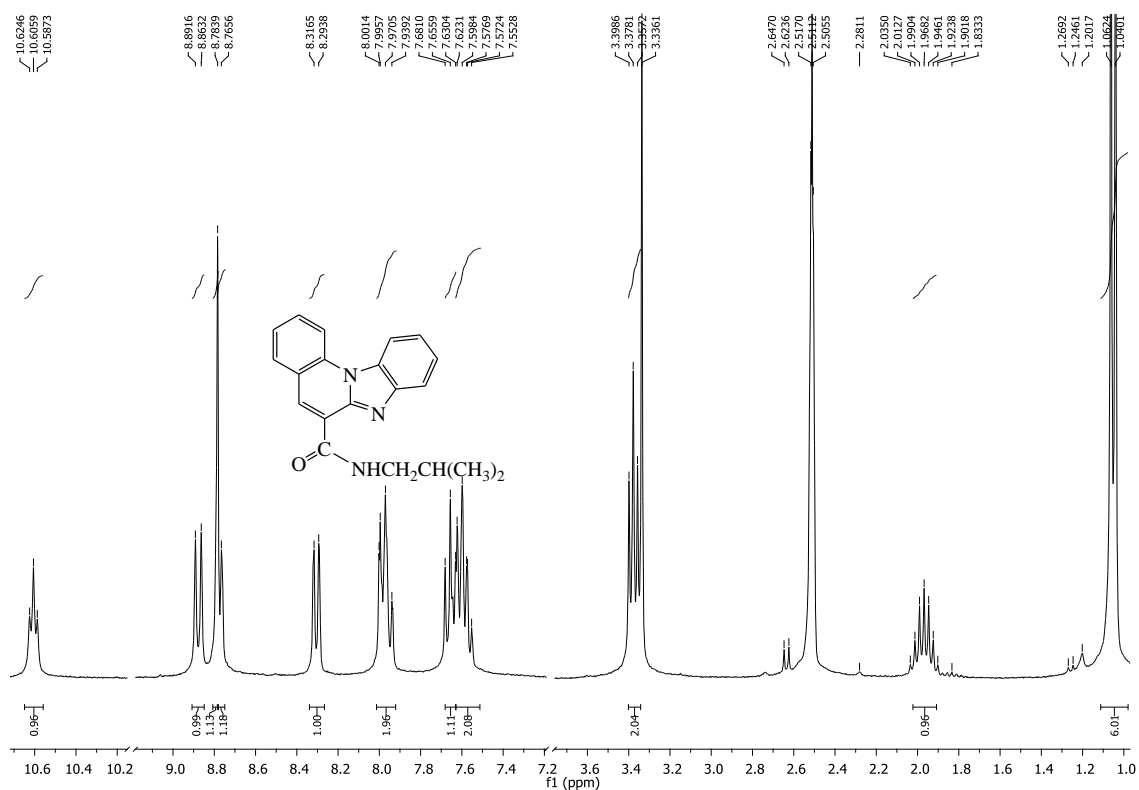
Prilog 9.

a) ^1H NMR spektar spoja **11**

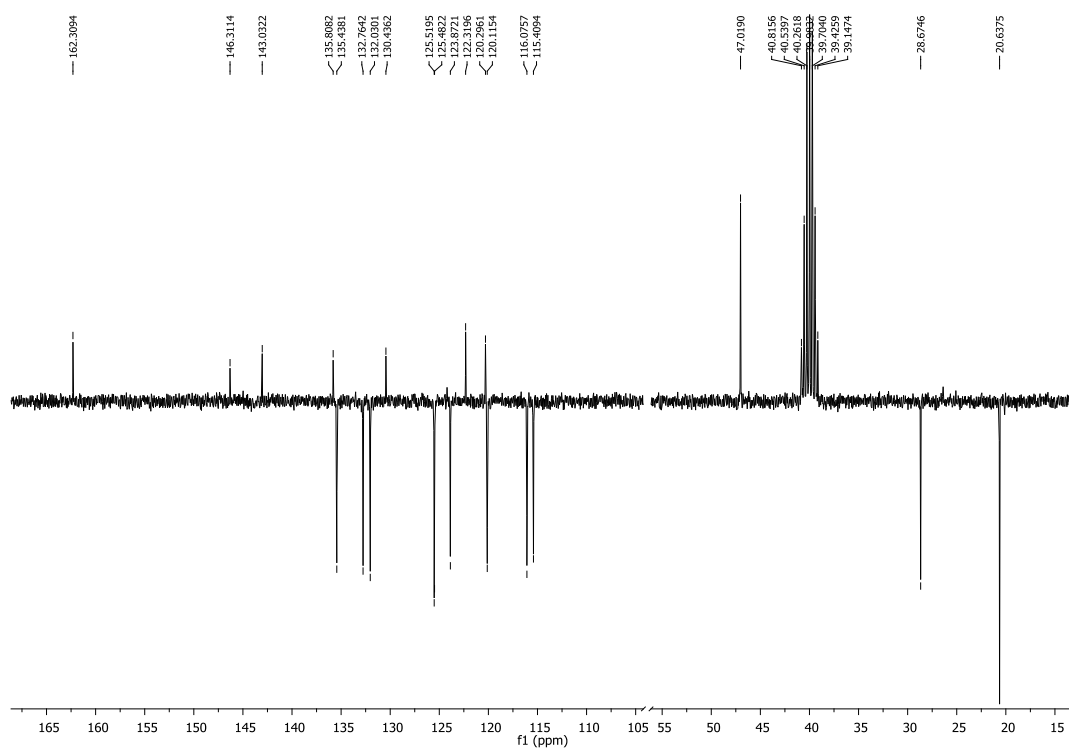


Prilog 10.

a) ^1H NMR spektar spoja **12**

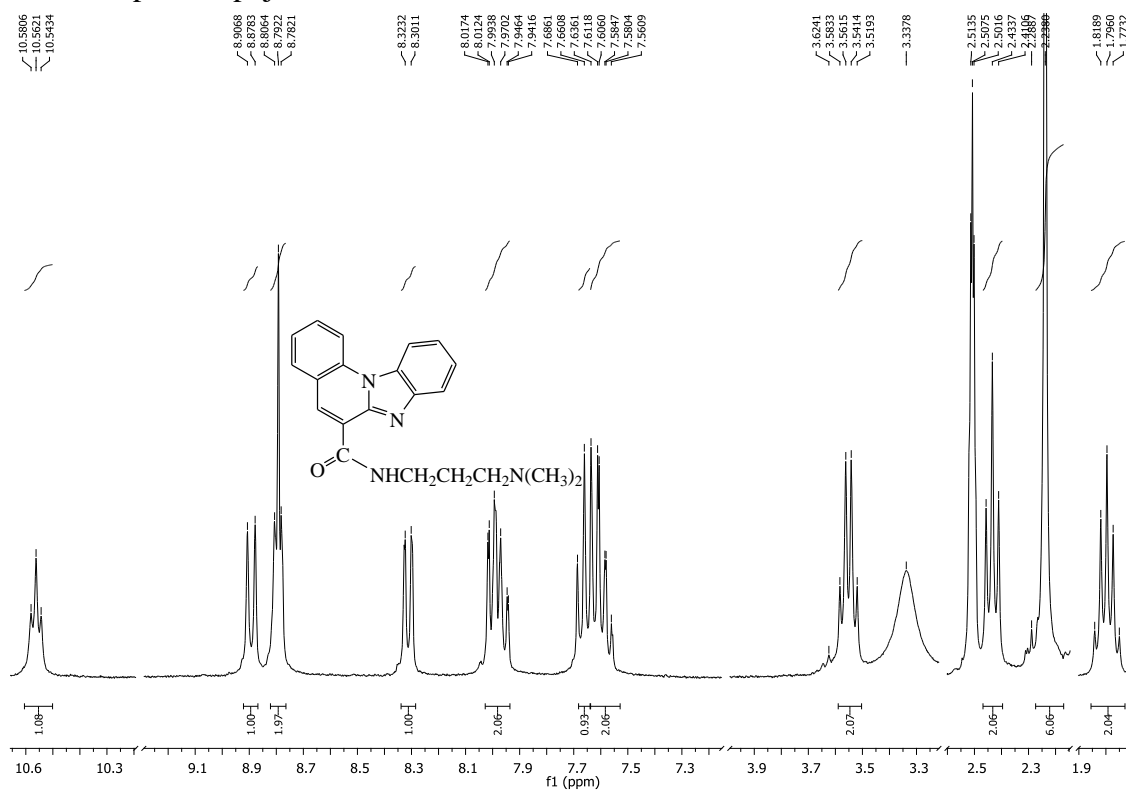


b) ^{13}C NMR spektar spoja **12**

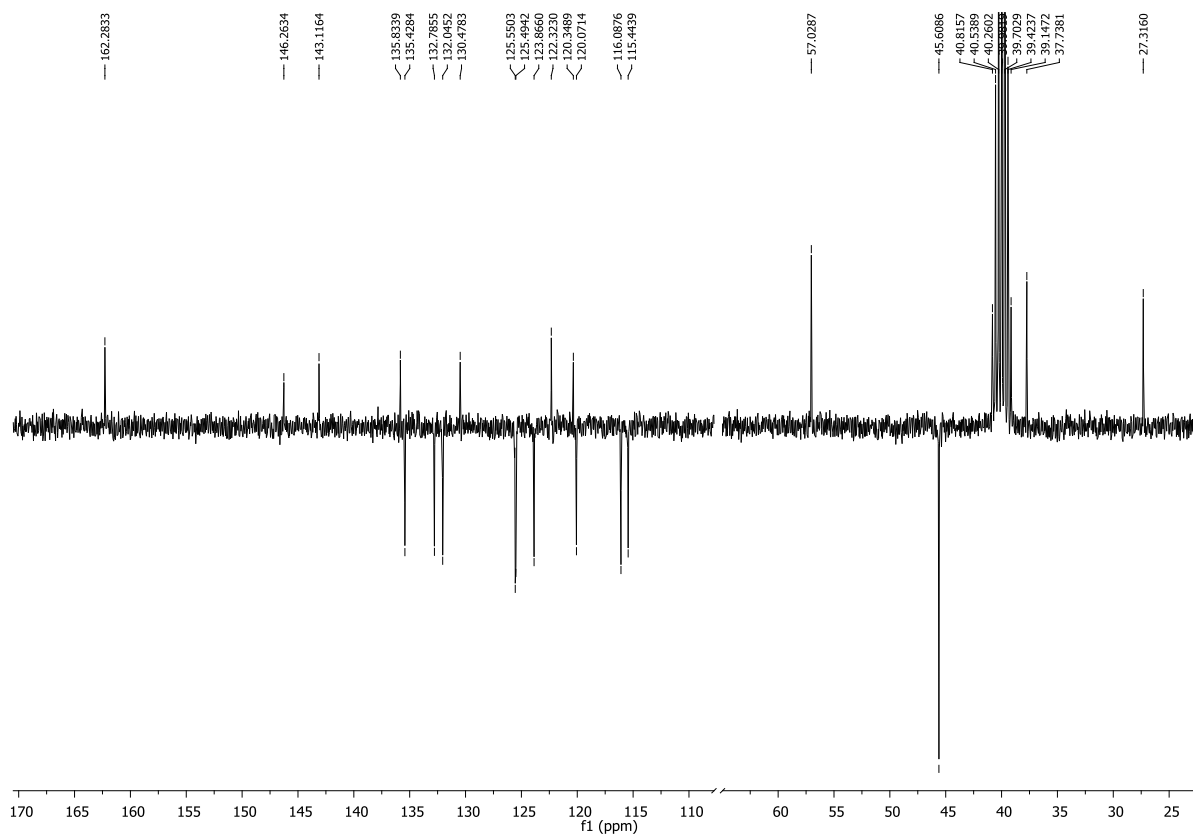


Prilog 11.

a) ^1H NMR spektar spoja **13**

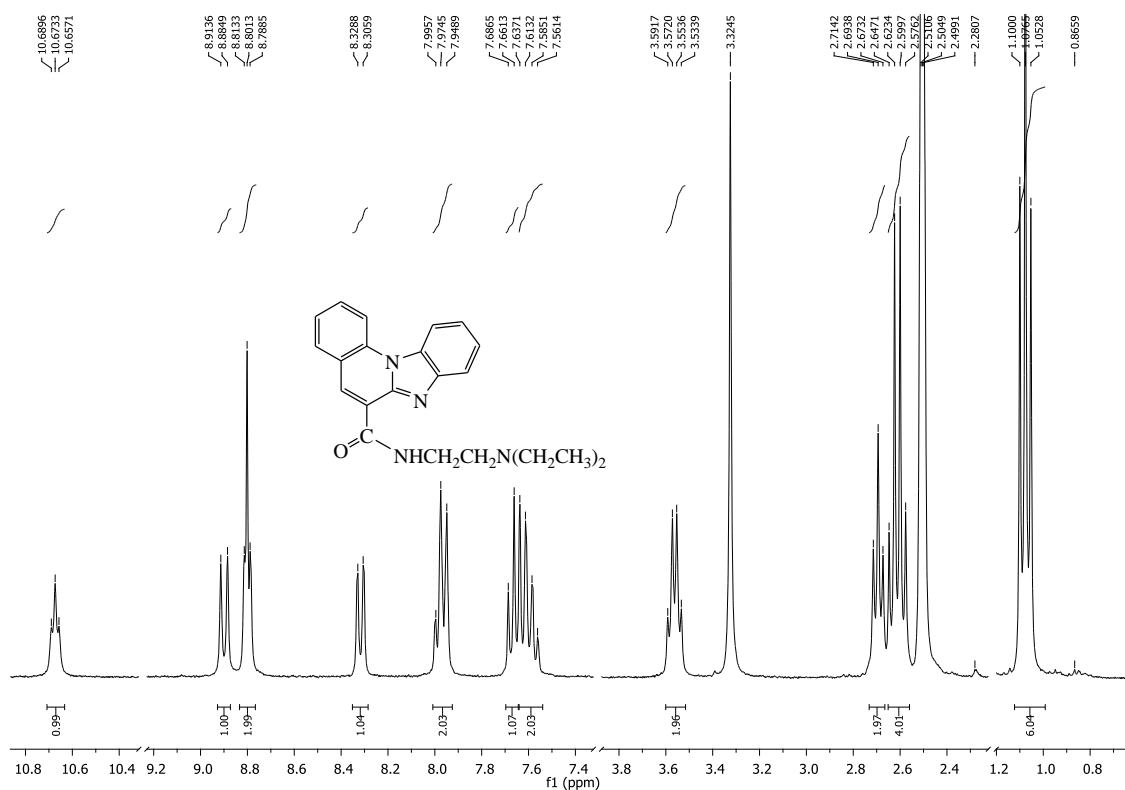


b) ^{13}C NMR spektar spoja **13**

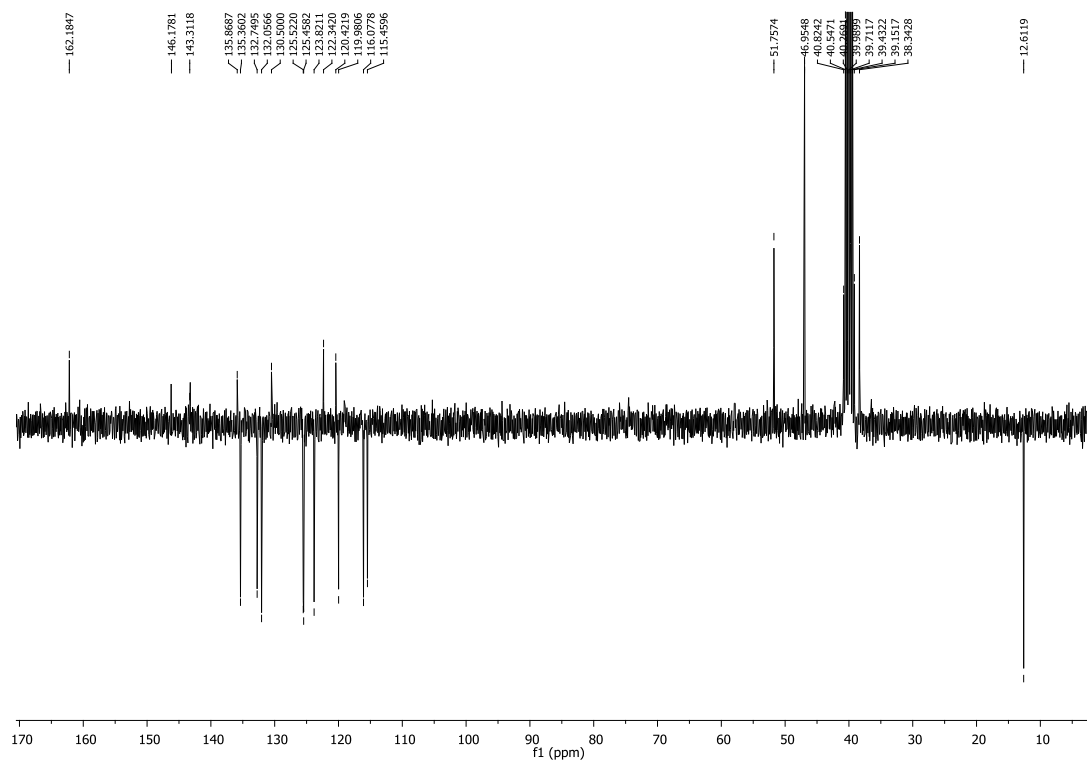


Prilog 12.

a) ^1H NMR spektar spoja **14**

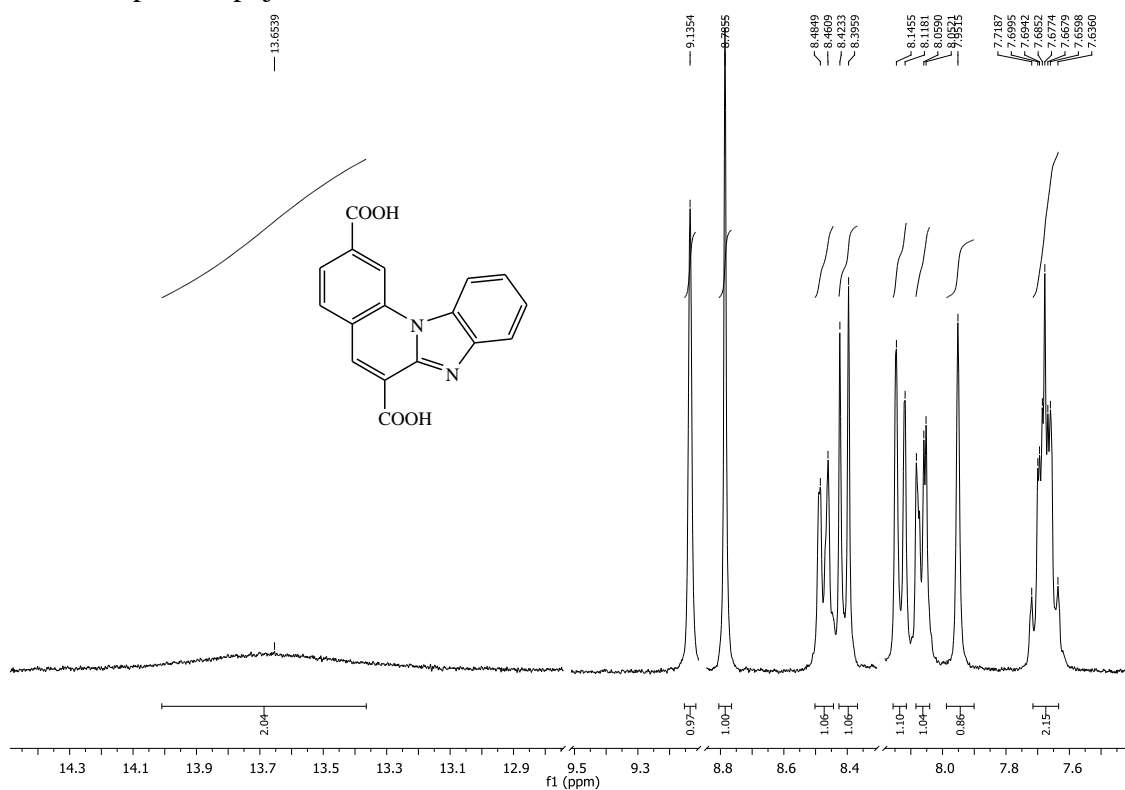


b) ^{13}C NMR spektar spoja **14**

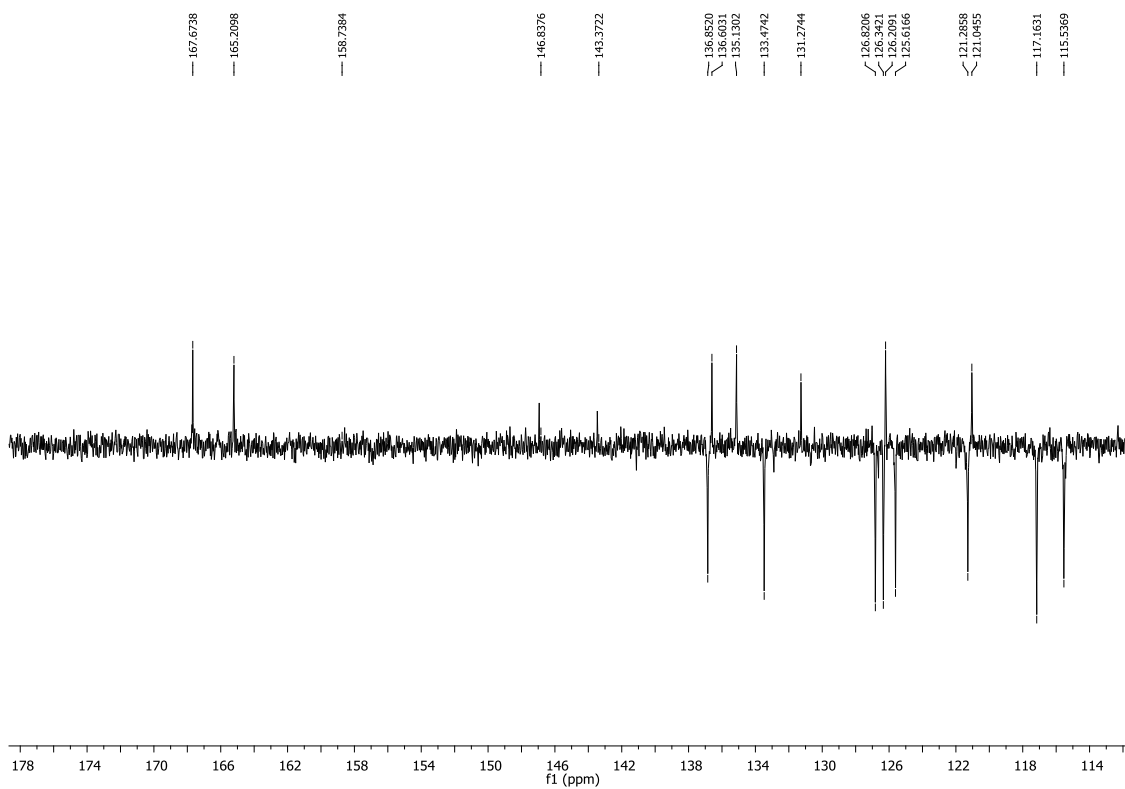


Prilog 13.

a) ^1H NMR spektar spoja **18**

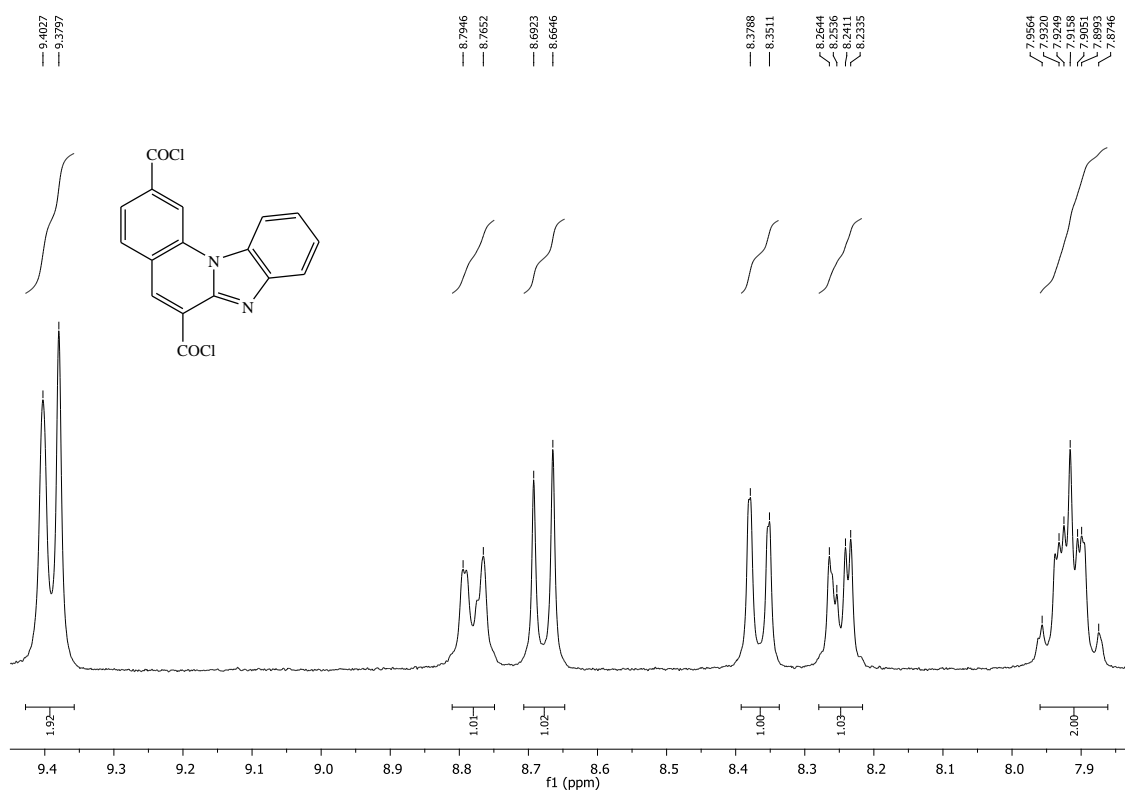


b) ^{13}C NMR spektar spoja **18**

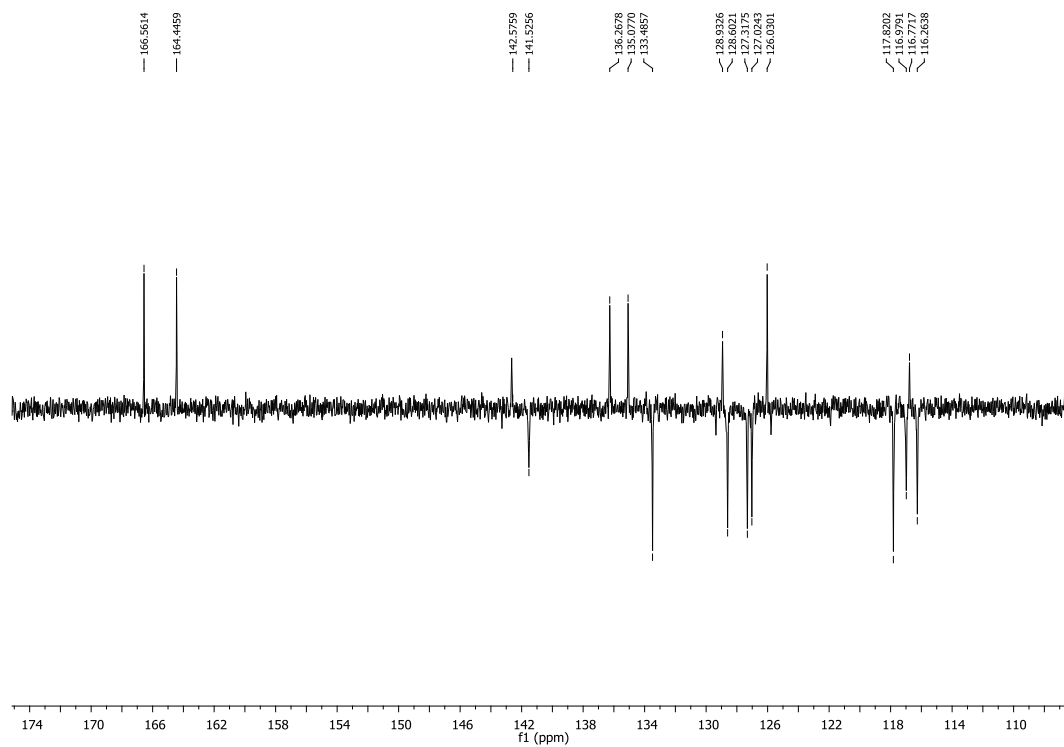


Prilog 14.

a) ^1H NMR spektar spoja **19**

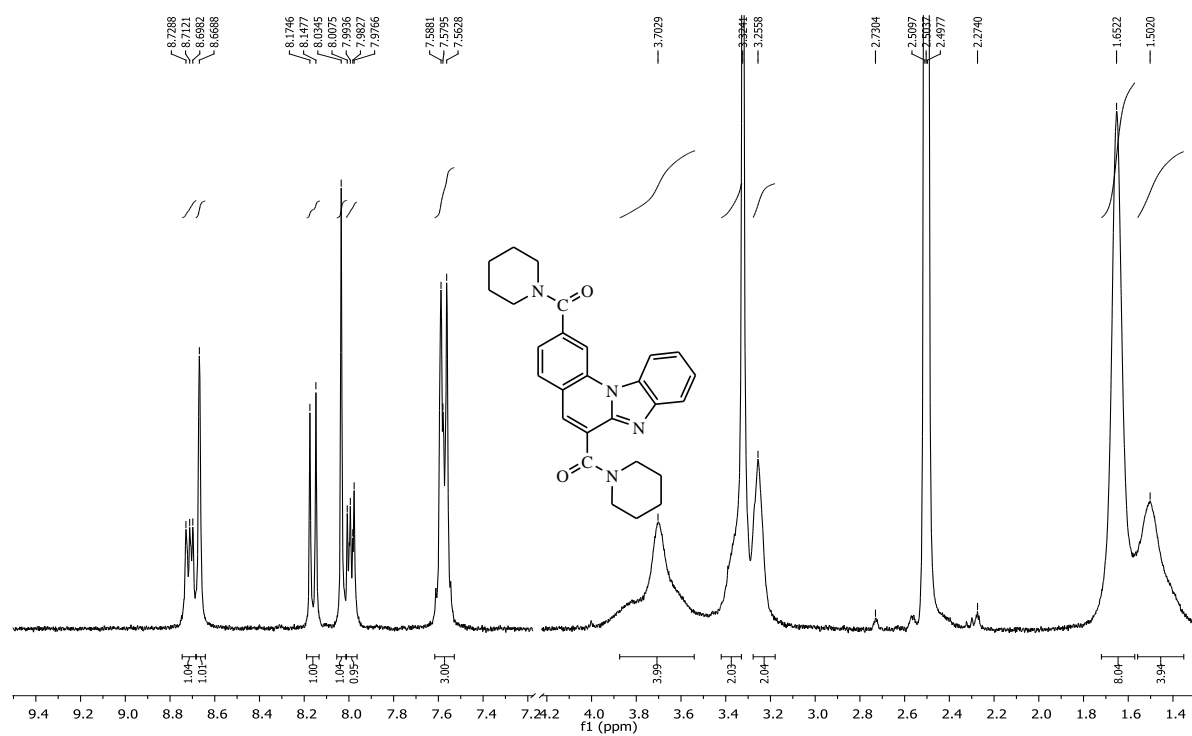


b) ^{13}C NMR spektar spoja **19**

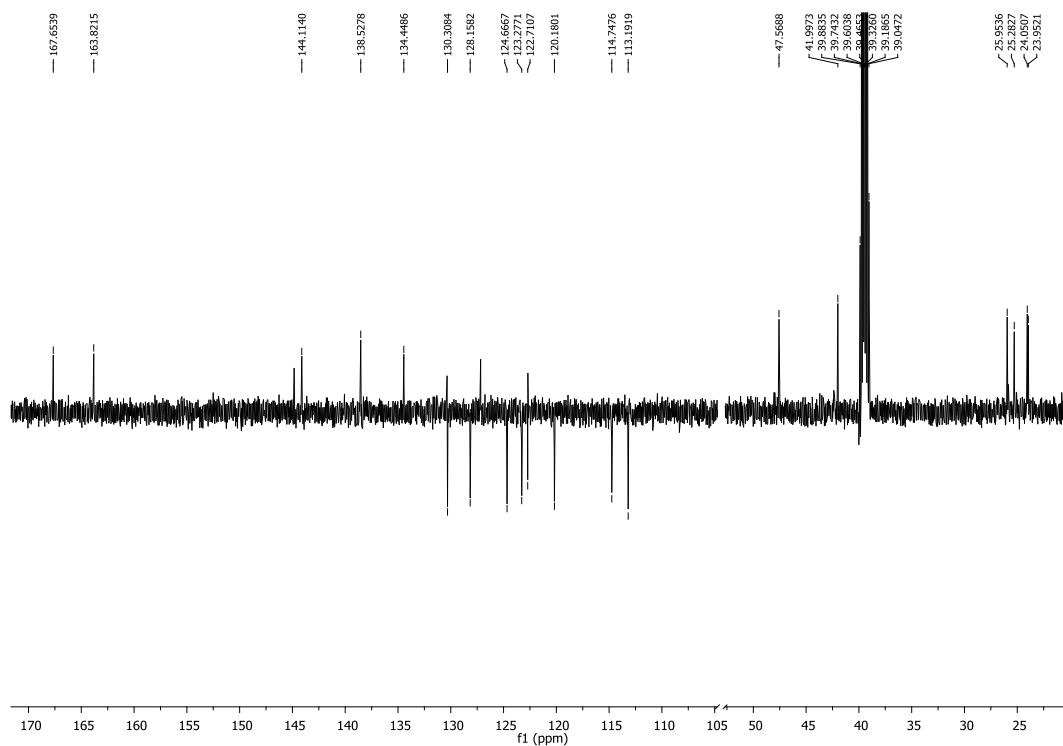


Prilog 15.

a) ^1H NMR spektar spoja **20**

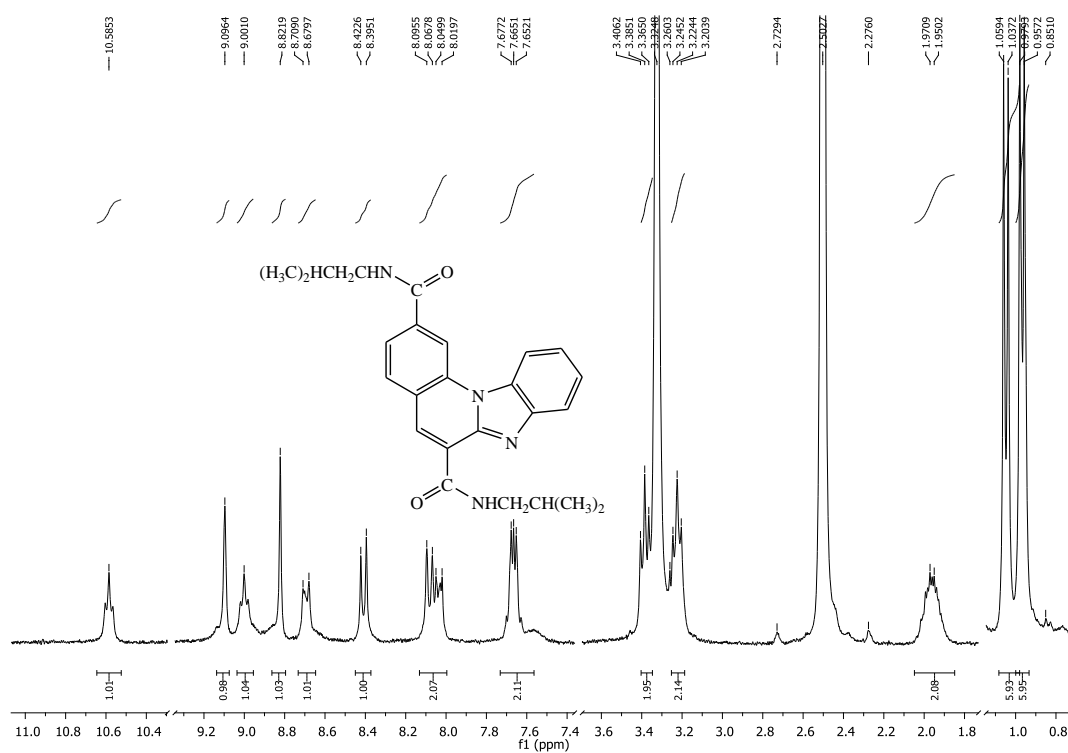


b) ^{13}C NMR spektar spoja **20**

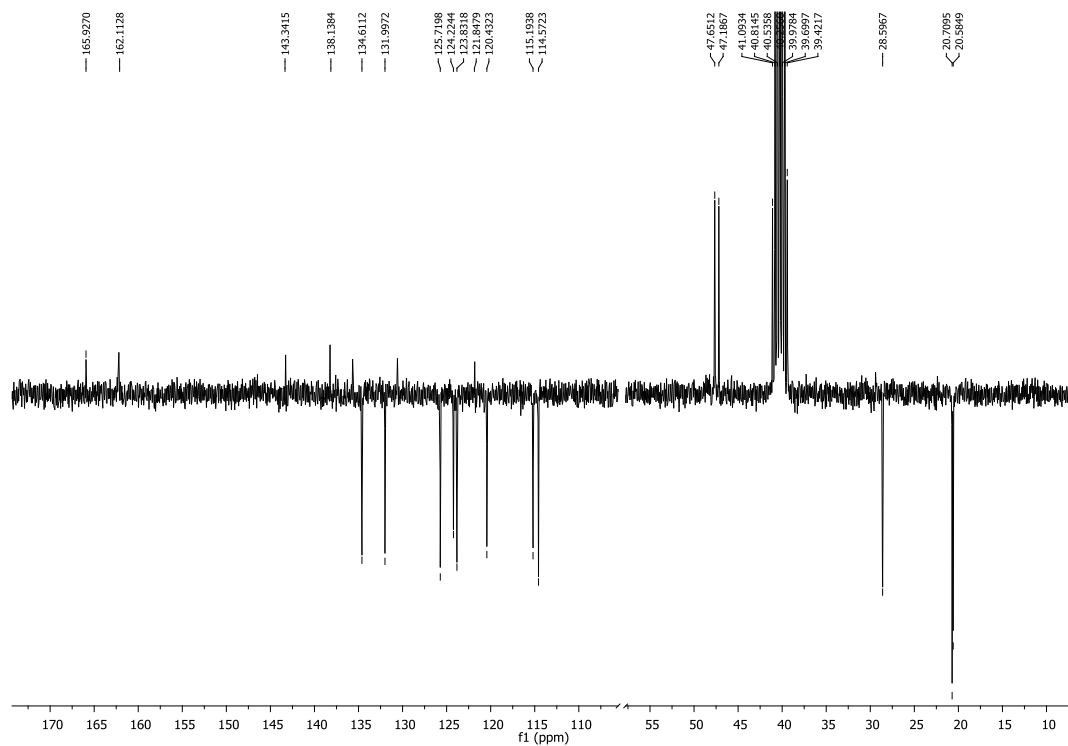


Prilog 16.

a) ^1H NMR spektar spoja **21**

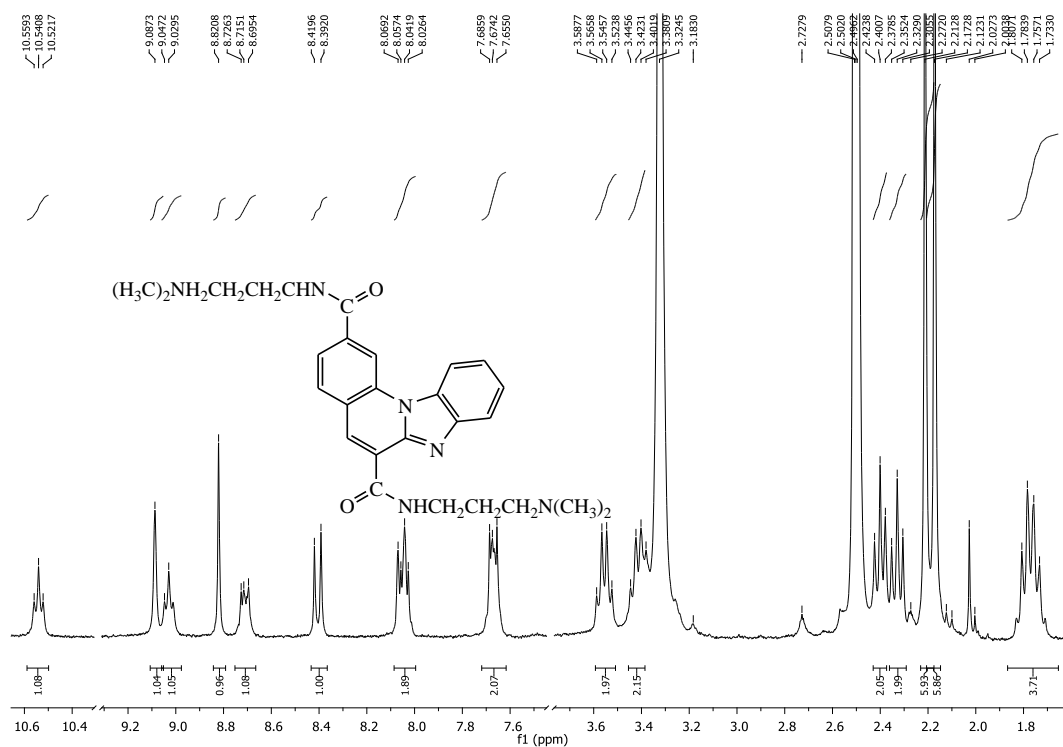


b) ^{13}C NMR spektar spoja **21**

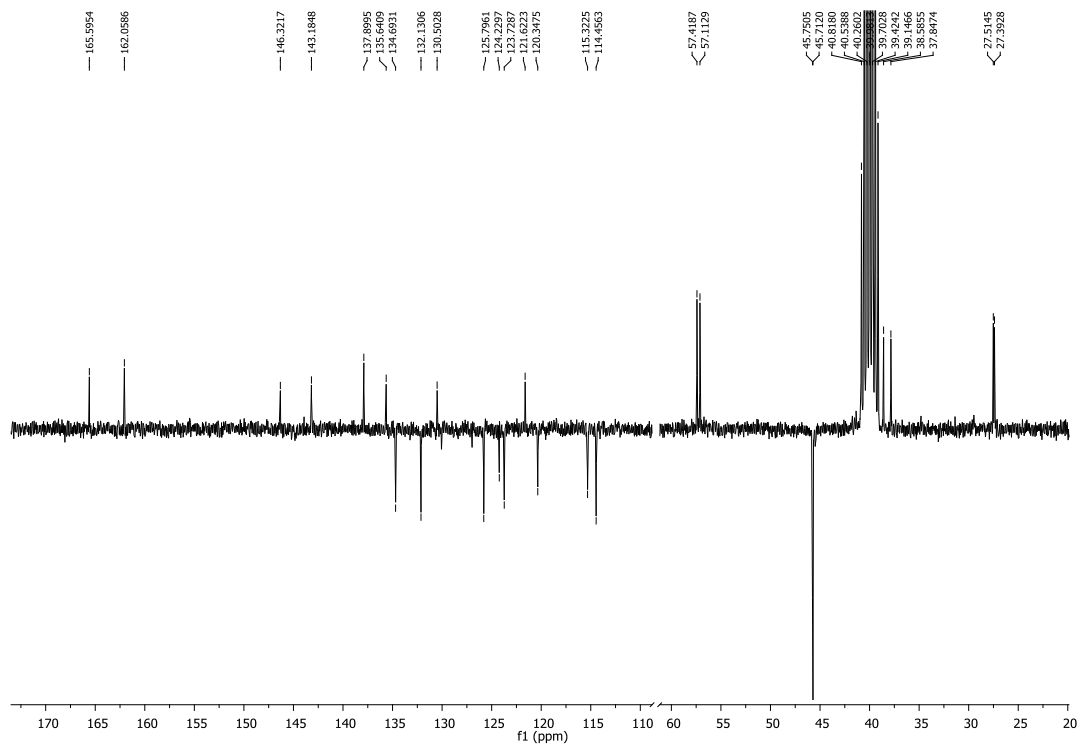


Prilog 17.

a) ^1H NMR spektar spoja **22**

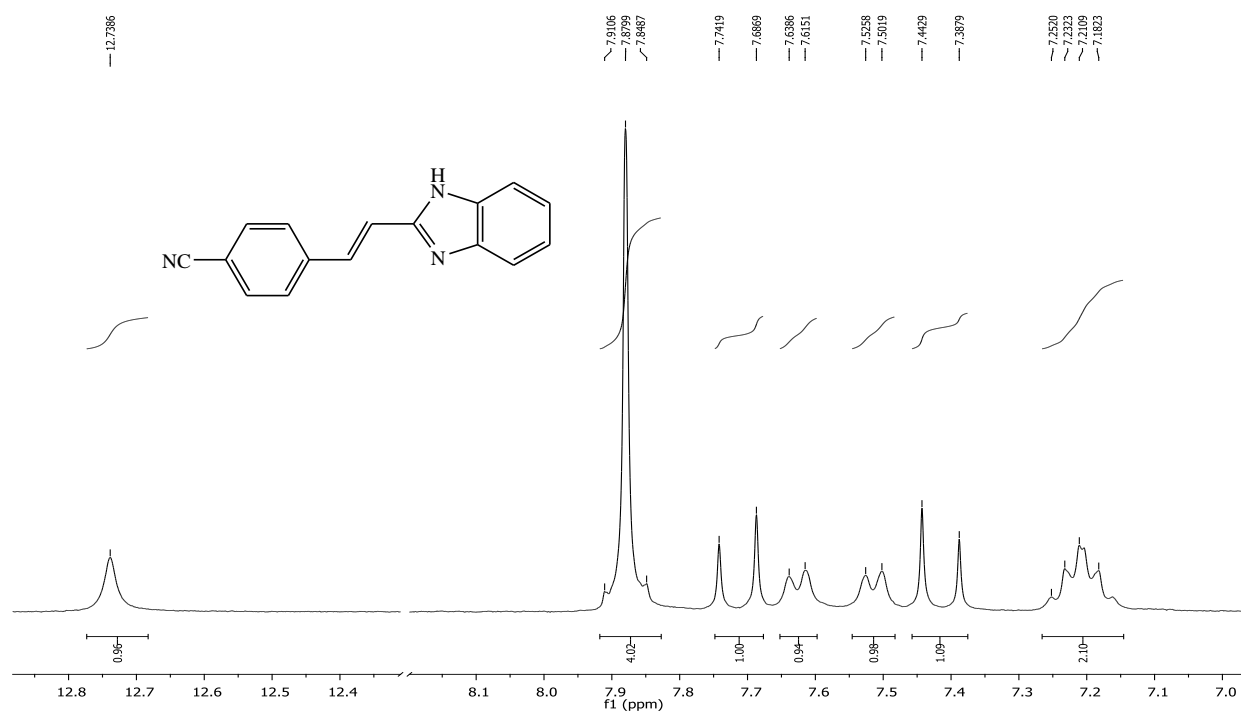


b) ^{13}C NMR spektar spoja **22**



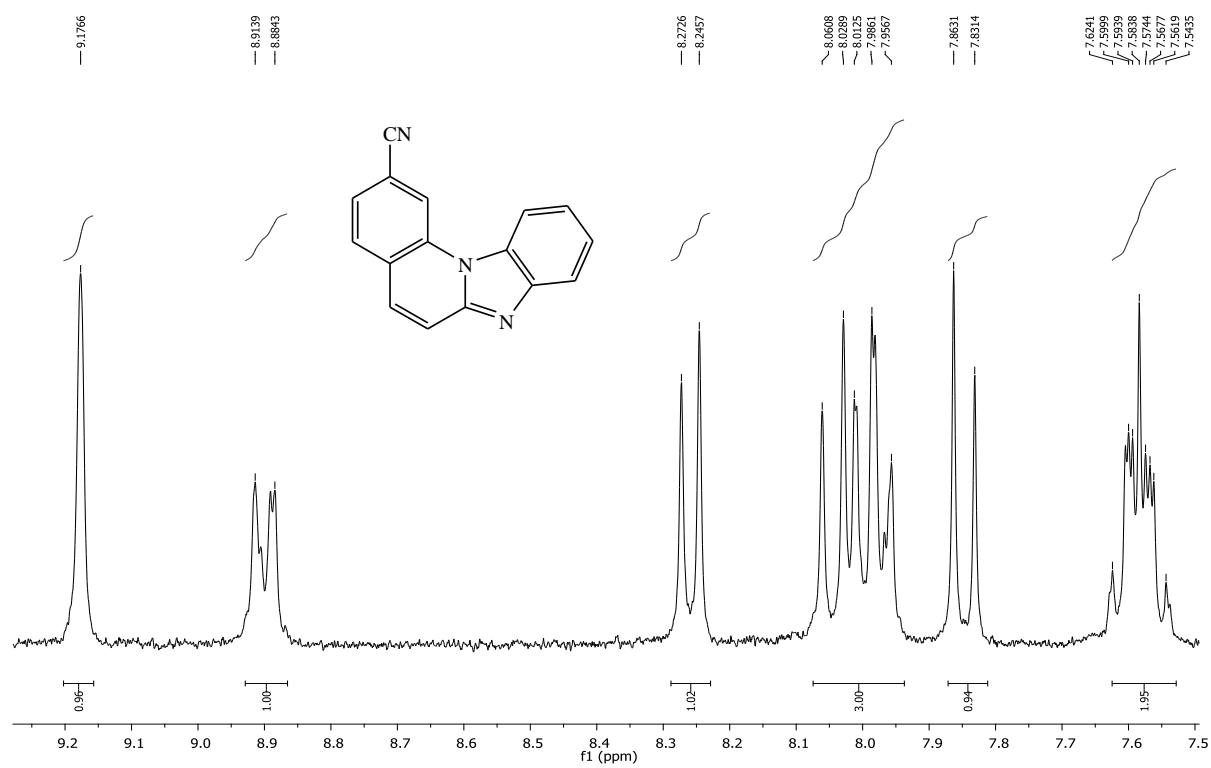
Prilog 18.

a) ^1H NMR spektar spoja **24**



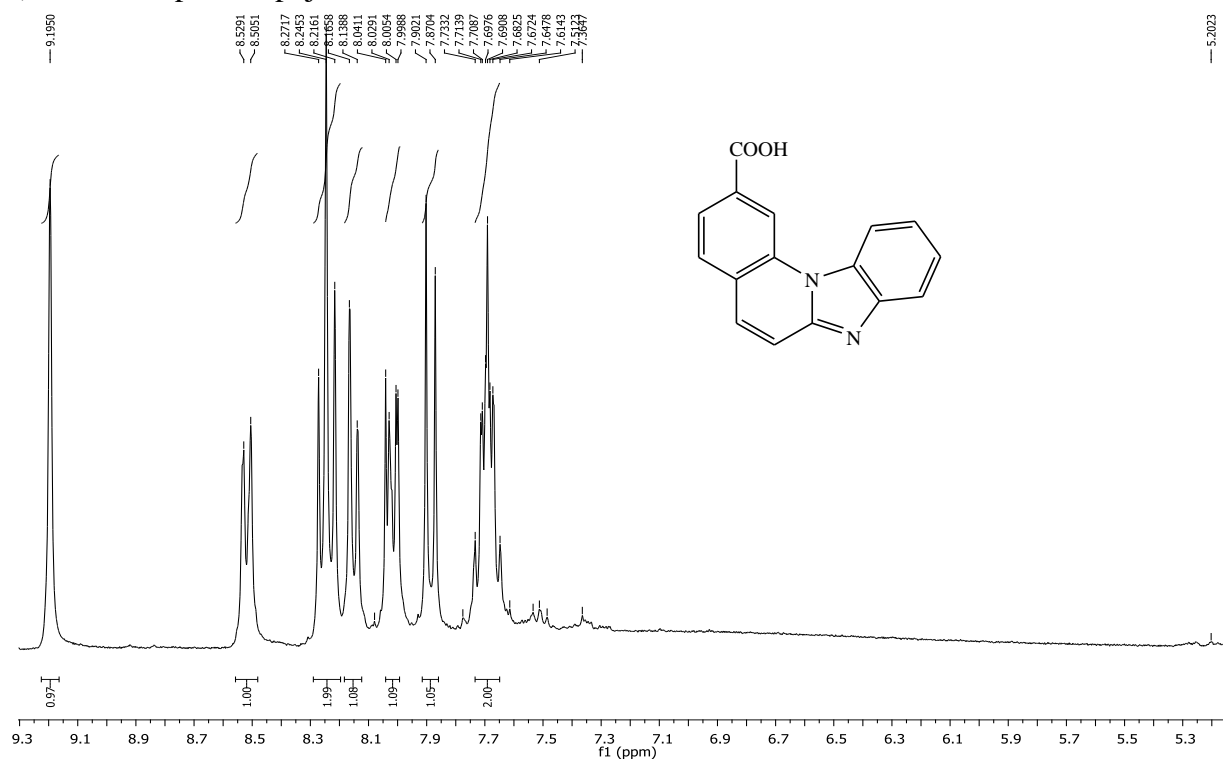
Prilog 19.

a) ^1H NMR spektar spoja **25**

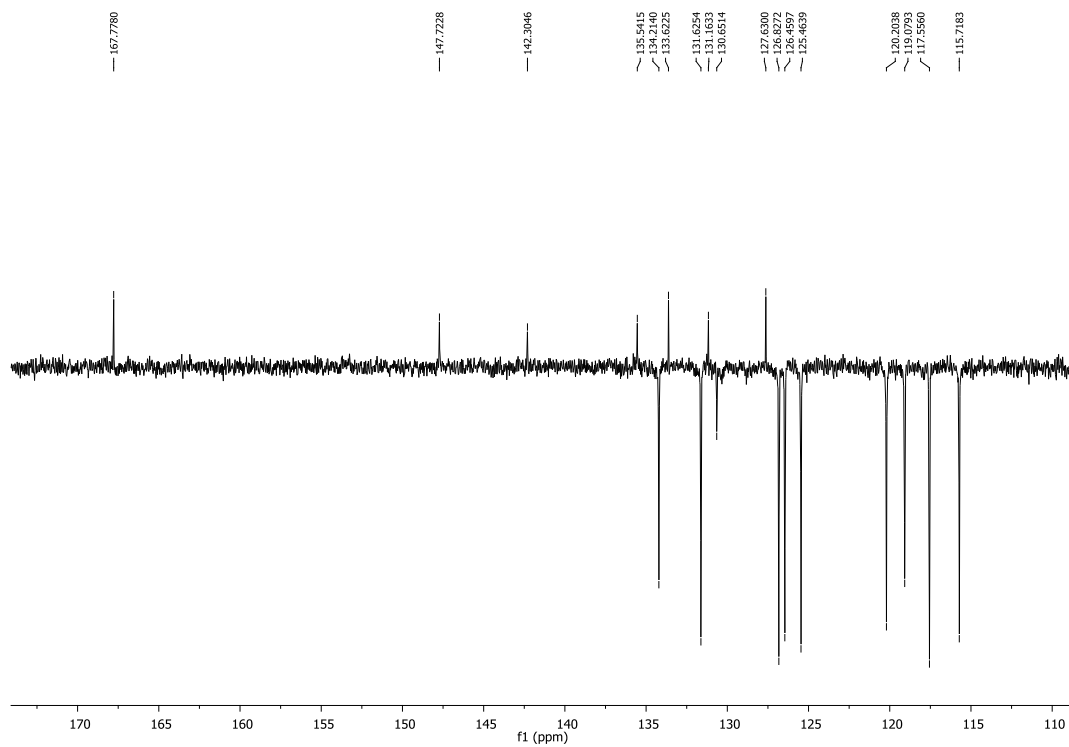


Prilog 20.

a) ^1H NMR spektar spoja **26**

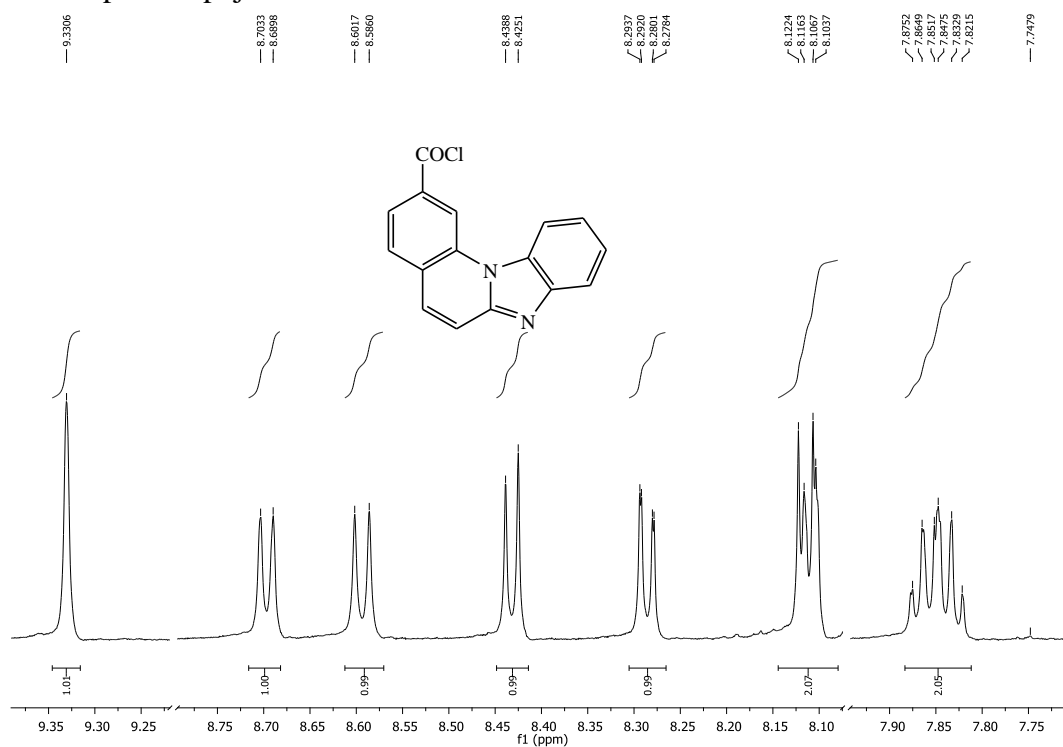


b) ^{13}C NMR spektar spoja **26**

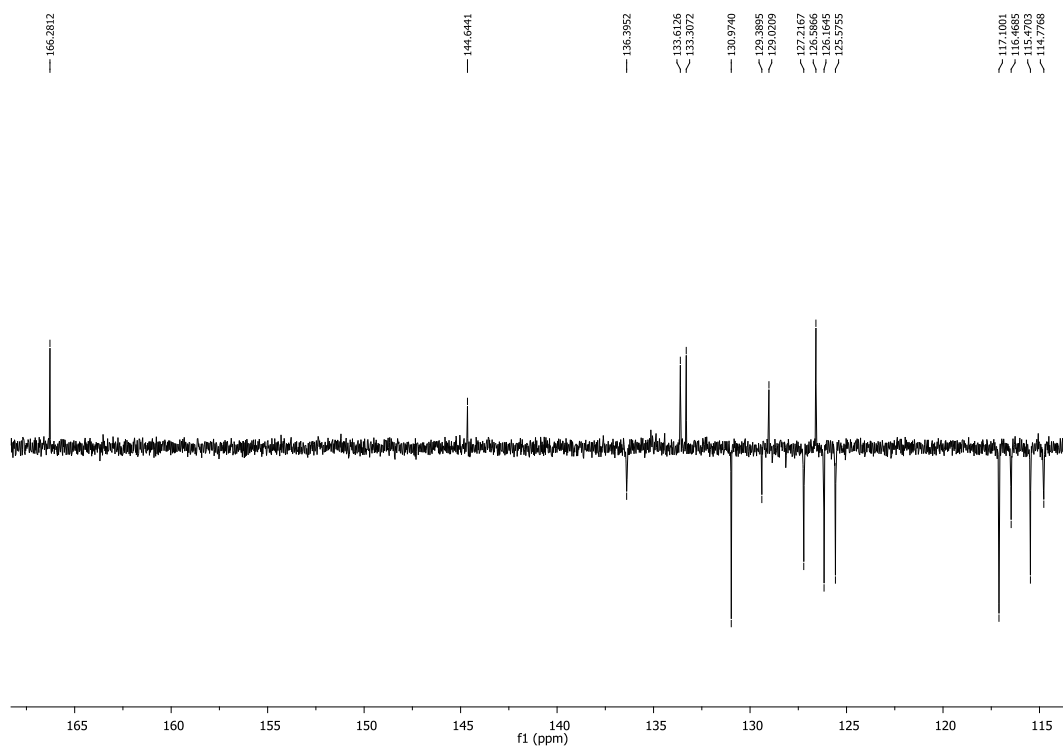


Prilog 21.

a) ^1H NMR spektar spoja **27**

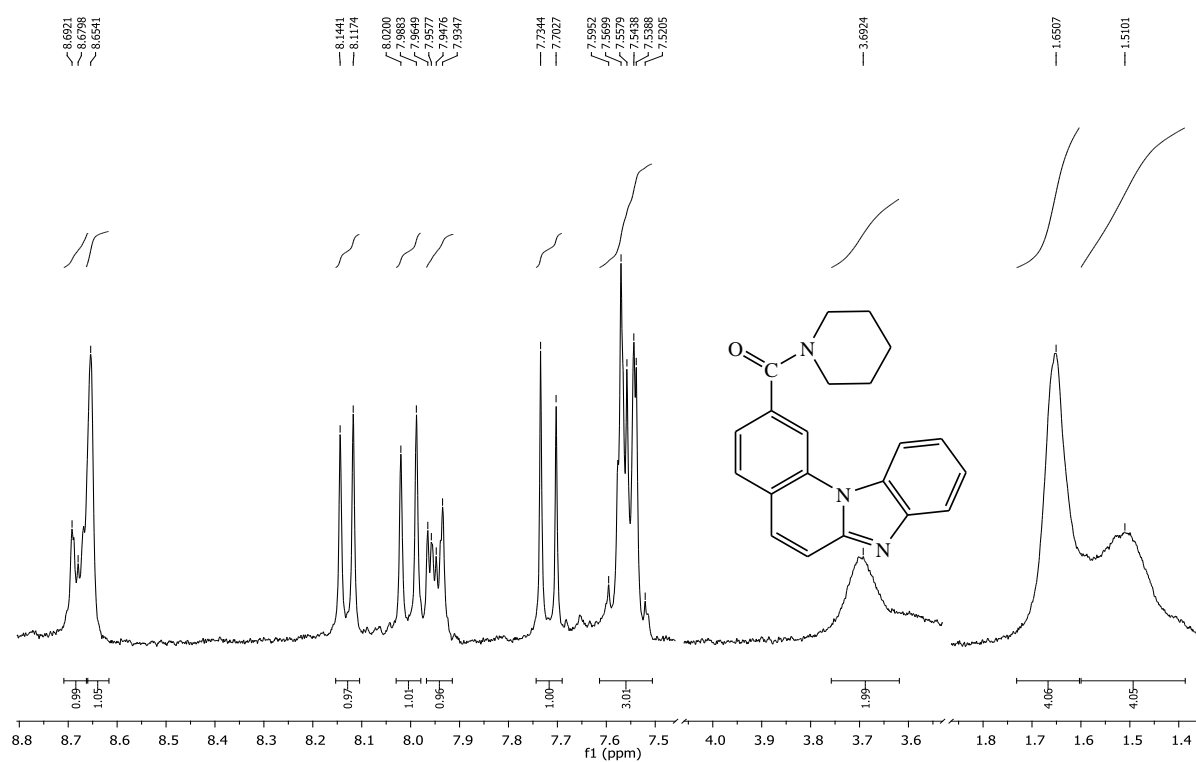


b) ^{13}C NMR spektar spoja **27**



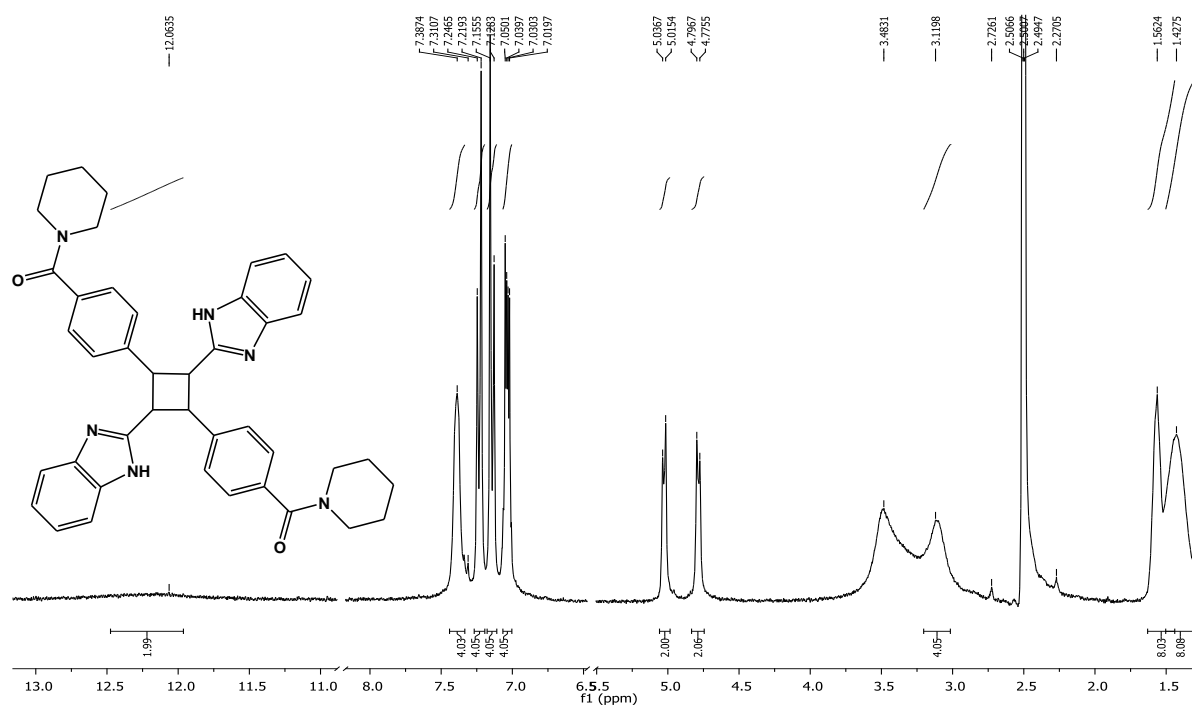
Prilog 22.

a) ^1H NMR spektar spoja **28**



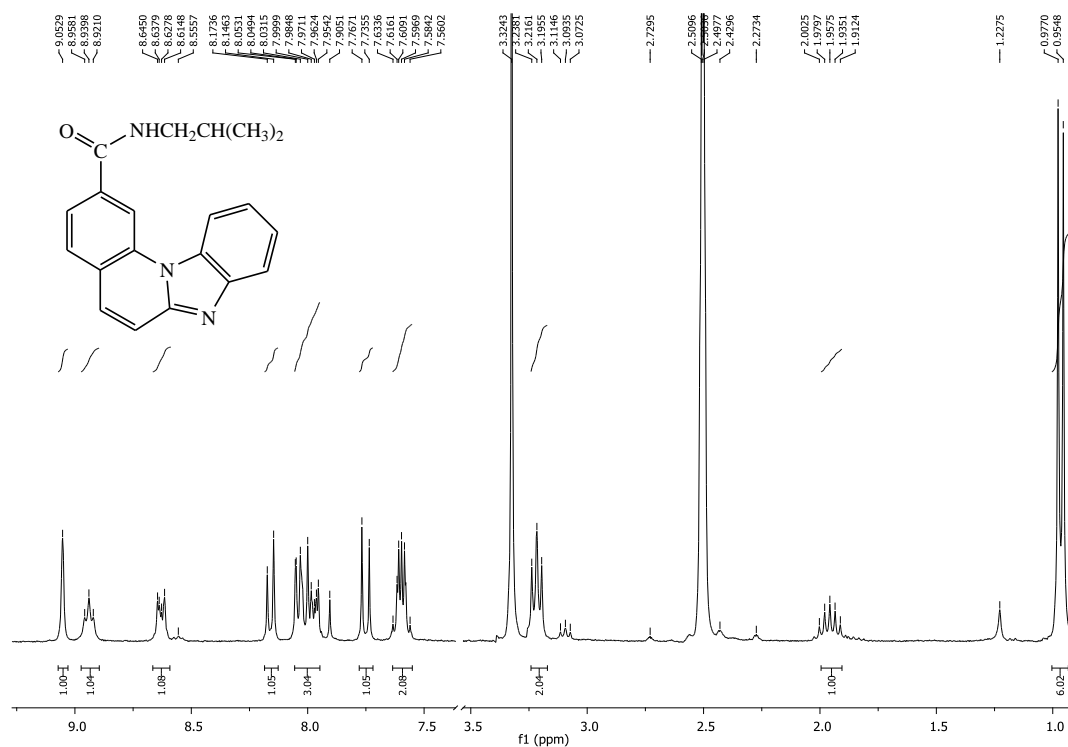
Prilog 23.

a) ^1H NMR spektar spoja **29**

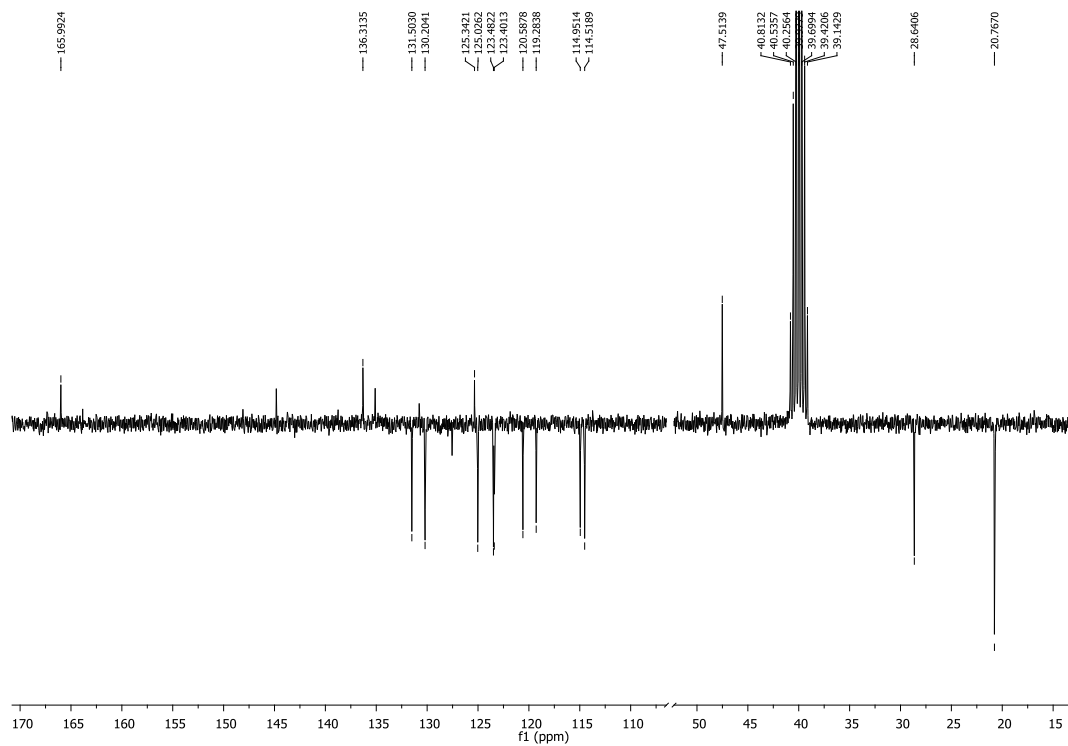


Prilog 24.

a) ^1H NMR spektar spoja **30**

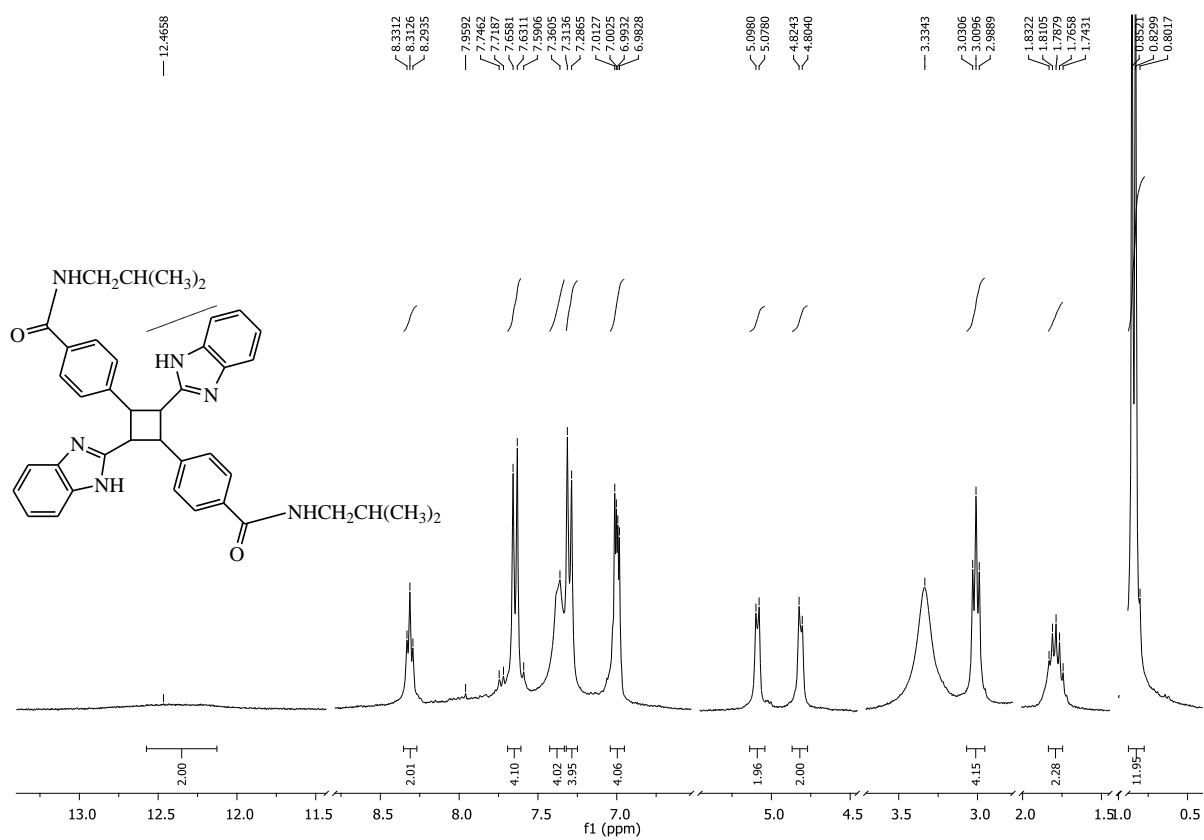


b) ^{13}C NMR spektar spoja **30**



Prilog 25.

a) ^1H NMR spektar spoja **31**



POPIS OZNAKA I KRATICA

DMSO – dimetil sulfoksid

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

IC₅₀ – koncentracija inhibitora koja uzrokuje 50 % smanjenja enzimске aktivnosti

LD₅₀ – srednja letalna doza

MIC – minimalna inhibitorska koncentracija

NMR – nuklearna magnetska rezonancija

RNK – ribonukleinska kiselina

UV/Vis – ultraljubičasta spektroskopija

ϵ – molarni ekstincijski koeficijent [$\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$]

λ_{em} – valna duljina emisije

λ_{exc} – valna duljina ekscitacije